



Qk  
1  
R454  
T. 71  
NH  
Tome 71

Fascicule 1 (Nos 1-17)

Mars 1964

112  
**REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE**

**ANNALES**

DE LA

**SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE**

ET DU

**MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE**

**MAURICE BEDOT**

fondateur

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

**EMILE DOTTRENS**

Directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève

AVEC LA COLLABORATION DE

**HERMANN GISIN**

Conservateur des arthropodes

et

**EUGÈNE BINDER**

Conservateur des invertébrés

**HOMMAGE A FRITZ BALTZER**

**à l'occasion de son 80<sup>e</sup> anniversaire**

**GENÈVE**

IMPRIMERIE ALBERT KUNDIG

1964

# REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

Tome 71. En cours de publication.

	Pages
LEHMANN, F. E. Die Arbeiten F. Baltzers in der Dekade 1950-1960 als Wegweiser zur Problematik des genetisch-entwicklungsphysiologischen Evolutionsgeschehens. Geleitworte des Zoologischen Instituts der Universität Bern zum 12. März 1964, dem 80. Geburtstag von Prof. F. Baltzer . . . . .	1-8
HUBER, W. und P. A. TSCHUMI. Verzeichnis der Publikationen von F. Baltzer . . . . .	9-20
N° 1. RUNNSTRÖM, John, Sven HÖRSTADIUS, Janis IMMERS and Molly FUDGE-MASTRANGELO. An analysis of the role of sulfate in the embryonic differentiation of the sea urchin ( <i>Paracentrotus lividus</i> ). With 17 text figures . . . . .	21-54
N° 2. BRACHET, J. Nouvelles observations sur les hybrides létaux entre Batraciens et entre Echinodermes . . . . .	55-74
N° 3. WOLFF, Etienne, Théodore LENDER et Catherine ZILLER-SENGEL. Le rôle de facteurs auto-inhibiteurs dans la régénération des Planaires (Une interprétation nouvelle de la théorie des gradients physiologiques de Child). Avec 14 figures dans le texte . . . . .	75-98
N° 4. HADORN, Ernst. Bedeutungseigene und bedeutungsremde Entwicklungsleistungen proliferierender Primordien von <i>Drosophila</i> nach Dauerkultur in vivo. Mit 6 Textabbildungen . . . . .	99-116
N° 5. TIEDEMANN, Hildegard und Heinz TIEDEMANN. Das Induktionsvermögen gereinigter Induktionsfaktoren im Kombinationsversuch. Mit 6 Textabbildungen . . . . .	117-138
N° 6. TOIVONEN, Sulo, Tapani VAINIO and Lauri SAXÉN. The Effect of Actinomycin D on Primary Embryonic Induction. With 4 text figures . . . . .	139-146
N° 7. CHEN, P. S. und A. FISCHER. Zur Entwicklung der xenoplastischen Augenchimären. Mit 13 Textabbildungen . . . . .	147-166
N° 8. TARDENT, Pierre. Der Sauerstoff-Verbrauch normaler und regenerierender Hydrocauli von <i>Tubularia</i> . Mit 4 Diagrammen . . . . .	167-182
N° 9. LÜSCHER, M. und M. WYSS-HUBER. Die Adenosin-Nukleotide im Fettkörper des adulten Weibchens von <i>Leucophaea maderae</i> im Laufe des Sexualzyklus. Mit 1 Diagramm . . . . .	183-194
N° 10. NOWINSKI, Wiktor W. and William C. MAHAFFEY. Oxidative Phosphorylation in Liver of Poikilothermic Animals ( <i>Rana pipiens</i> ) . . . . .	195-202
N° 11. REVERBERI, C. Data concerning the relative distribution of two varieties of <i>Discoglossus pictus</i> in Sicily ( <i>Amphibia</i> ) . . . . .	203-214

(Voir suite page 3 de la couverture)

## Prix de l'abonnement :

Suisse Fr. 75 —

Union postale Fr 80.—

(en francs suisses)

Les demandes d'abonnement doivent être adressées à la rédaction de la *Revue Suisse de Zoologie*, Muséum d'Histoire naturelle, Genève

## ERRATUM

---

Revue Suisse de Zoologie: vol. 71, 1964, page 292, line 15:

*Replace X by Y - (quinzième ligne, lire Y au lieu de X)*







FRITZ BALTZER



## Die Arbeiten F. Baltzers in der Dekade 1950-1960 als Wegweiser zur Problematik des genetisch-entwicklungsphysiologischen Evolutionsgeschehens \*

Geleitworte des Zoologischen Instituts der Universität  
Bern zum 12 März 1964, dem 80. Geburtstage von Prof.  
F. Baltzer.

von

**F. E. LEHMANN**

Wenn sich die ehemaligen Schüler und Mitarbeiter von F. BALTZER jeweils auf den 12. März 1934, 1944 und 1954 zu einer kleinen Feier zusammentaten und des Jubilars gedachten, so hatte das für alle Beteiligten seinen guten Sinn. Die jungen und älteren Entwicklungsphysiologen, die im Zoologischen Institut Bern tätig waren fühlten sich in der ganzen Zeit als Glieder einer entwicklungsphysiologischen „Bauhütte“, die sich gemeinsam mit dem Leiter des Ganzen, F. BALTZER, um eine grosse Aufgabe der Biologie als Lebensziel bemühten.

Da konnte dann jeweils das Dezennium des Geburtstages als ein guter Anlass benutzt werden, um sich des gemeinsam Vollbrachten zu freuen und es zugleich in der Rückschau zu würdigen. Freilich bedeutet der 70. Geburtstag, der den zwangsläufigen Rücktritt von der akademischen Tätigkeit in sich begreift, nicht das-

---

\* Vergl. die folgenden Fussnoten, in denen sich Hinweise auf einige bemerkenswerte Publikationen Baltzers und seiner Schüler finden. Die Publikationen sind nach dem Erscheinungsjahr zitiert.

selbe wie der bevorstehende 80.. Aber jetzt zeigt sich deutlich, dass mit dem gesetzlich vorgeschriebenen Rücktritt der wissenschaftlichen Wirksamkeit von F. BALTZER keine echten Grenzen gesetzt waren. So scheint es uns besonders wünschbar, auch auf die wissenschaftliche Wirksamkeit in der Dekade 1954—1963 eigens einzugehen. Hier tun sich in der Arbeit BALTZERS, gerade dank der Vermehrung des reichen eigenen Erfahrungsgutes und des zielbewussten Experimentierens, weite und neuartige wissenschaftliche Perspektiven auf, die alle, die mit BALTZER näher verbunden sind, von Herzen würdigen können. Wir wünschen dem Jubilar, dass er sich mit seinen Weggenossen ob des zurückgelegten Weges freuen könne.

Die Untersuchungen F. BALTZERS waren auf verschiedene Probleme der Entwicklungsphysiologie und der Genetik zentriert. Vor allem war es

#### 1. DIE VERTRETBARKEIT MORPHOGENETISCHER FUNKTIONEN IN DER ENTWICKLUNG

die BALTZER immer wieder aufs neue beschäftigt hat. Schon früh hat sich das gezeigt bei den Studien über die Bastardmerogone der Amphibien<sup>1</sup>, die sich in vielem an die Entwicklungsphysiologie der Bastardmerogone der Echinodermen anlehnten und damit an frühere Studien von BALTZER anknüpfen. Dabei kam das Problem zur Sprache, wie weit Keime lebensfähig sind, die nur den haploiden Chromosomensatz des mütterlichen Vorkerns besitzen. Wohl ergab sich dabei, dass nur die Hälfte der elterlichen Chromosomen vertreten werden kann. Aber zugleich ist die Leistung des haploiden mütterlichen Chromosomensatzes geringer als die entsprechende Leistung eines diploiden Normal-Keimes.

Die Frage der Vertretbarkeit haploider verschiedener Chromosomensätze bei bastardmerogonischen Keimen hat sich in der Folge

---

<sup>1</sup> Entwicklungsphysiologie der Bastardmerogone, insbesondere letale Entwicklung: s. z. B.:

BALTZER F. 1930, 1934, 1938, BALTZER F. mit DE ROCHE V. 1936, BALTZER F., SCHÖNMANN W., LÜTHI H. und BOEHRINGER F. 1939, BALTZER F. 1940, 1948, FANKHAUSER G. 1925, HADORN E. 1932, 1937, CURRY H. A. 1936, BOEHRINGER F. 1938, STAUFFER E. 1945.



experimentell als viel dornenvoller herausgestellt, als ursprünglich erwartet werden konnte.

Wohl hat BALTZER neue experimentelle Verfahren<sup>1</sup> zur Gewinnung von Bastardmerogonen entwickelt, besonders bei verschiedenen Molcharten. Dabei ergab sich allerdings, dass die haploiden Chromosomen im Cytoplasma einer nahe verwandten Art nicht so ohne weiteres ausgewechselt werden können gegenüber dem Chromosomensatz eines anderen Kerns, der sich in anderem Cytoplasma befindet. Als wesentliche Neuentdeckung musste festgelegt werden, dass hier eine eigenartige fremdkernige *Letalität* auftritt, wenn solche Kerne innerhalb eines anderen Plasmas zur Entwicklung gebracht werden. Es ist das grosse Verdienst BALTZERS gewesen, die entwicklungsphysiologische und genetische Bedeutung der fremdkernigen Letalität erkannt zu haben. Mit ihr ist zunächst ein Problem der molekularen Biologie aufgeworfen, denn es geht um die biochemische Zusammenarbeit der DNS im fremden Cytoplasma. Es bleibt aber das unvergängliche Verdienst BALTZERS, dieses genetische Problem gestellt zu haben.

## 2. DIE MORPHOGENETISCHE VERTRÄGLICHKEIT VON TRANSPLANTATEN BEI HETERO- UND XENOPLASTISCHEN EMBRYONALTRANSPLANTATEN (CHIMÄREN)<sup>1</sup>

Schon SPEMANN hatte gefunden, dass Verbände artgleicher Gewebe in Embryonen auch als xenoplastische Transplantate während einer längeren Entwicklungsperiode miteinander verträglich sind. Diese zunächst sehr überraschende Feststellung SPEMANNs und seiner Schüler hat BALTZER in Zusammenarbeit mit seinen Schülern ROTH und ANDRES genauer präzisiert. Es hat sich allerdings dabei gezeigt, dass der Gewebeverträglichkeit ein Ziel gesetzt ist, die xenoplastischen Transplantate können zwar mit ihrer fremden Umgebung auf längere oder kürzere Zeit zusammenarbeiten, es ist also zunächst eine teilweise *morphogenetische Vertretbarkeit* dieser xenoplastischen Implantate gegeben. Sobald einmal die Gewebedifferenzierung gewisse Differenzen überschritten hat,

---

<sup>1</sup> Chimärische Embryonaltransplantate (Hetero- und Xenoplastik): s.z.B.:  
BALTZER F. 1940, 1941a, 1941b, 1942, 1943, 1946, 1947, 1949,  
BALTZER F. mit ANDRES G. und ROTH H. 1949, 1950a, 1950b,  
HADORN E. 1932, 1937, LÜTHI H. R. 1938.

die wohl biochemischer Natur sein dürften, kommt es zur schon erwähnten Letalität. Es ist also auf alle Fälle bei xenoplastischen Transplantaten jeweils eine beschränkte morphogenetische Vertretbarkeit und auch eine Kompatibilität für die Embryonalgewebe von Triton und der Unke Bombinator festzustellen. Jeder Anlagebereich hat seine artspezifischen Bildungspotenzen, die auf eigenen Tendenzen beruhen und auf solchen, die durch benachbarte Induktoren aktiviert werden können. In seinem umfangreichen Aufsatz von 1955 hat BALTZER hier die Möglichkeiten aufgedeckt, die morphogenetische Wertigkeit von Embryonalorganen genauer zu umschreiben. Gleichzeitig ist es auch möglich geworden, die gegenseitige Vertretbarkeit von Organanlagen genauer zu erfassen. Hier tun sich für den experimentellen Embryologen noch sehr viel weitere Forschungsmöglichkeiten auf.

### 3. DIE GEGENSEITIGE VERTRETBARKEIT DER KERNMATERIALIEN BEI DER INKORPORATION VON NUKLEOTIDEN IN DIE BASTARDKERNE VON SEEIGELN<sup>1</sup>

In den letzten Jahren kehrte BALTZER mit verschiedenen Mitarbeitern zu einer früher aufgegriffenen Grundfrage zurück, die schon auf seine Assistentenjahre bei Boveri zurückgingen. BALTZER versuchte an Seeigelkeimen zu prüfen, wie weit die Inkorporationstätigkeit gegenüber biochemisch wichtigen Substanzen seitens verschiedener Zellkerne in verschiedener Weise ausgeübt wurde. Es stellte sich die Frage, wie weit sich normale und diploide Keime, und zwar mit diploiden oder merogonischen Kerngarnituren in Bezug auf diese Leistungen miteinander vergleichen lassen.

Man darf wohl sagen, dass hier von den genannten Autoren für die verschiedenen Kombinationen des Seeigelkeimes mit dem zugehörigen Plasma sehr verschiedenartige Leistungen gefunden wurden, die nicht erwartet werden können. Genau wie bei dem Versuch BALTZERS an Amphibien mit Bastardmerogonen und der

<sup>1</sup> Vertretbarkeit der Kernmaterialien: s. z. B.:

BALTZER F., HARDING C., LEHMAN H. E. und BOPP P. 1954,  
BALTZER F. und BERNHARD M. 1955,  
CHEN P. S. und BALTZER F. 1958, BALTZER F., CHEN P. S. und  
WHITELEY A. M. 1958, WHITELEY A. M. und BALTZER F. 1958,  
BALTZER F. und CHEN P. S. 1960, CHEN P. S. und BALTZER F. 1962.

Transplantation xenoplastischer Gewebe treten hier verschiedenartige Varianten in der Verträglichkeit verschiedener Komponenten zutage. Die Gründe für ein letales Verhalten im einen Falle und für eine normale Zusammenarbeit im anderen können nicht vorausgesagt werden, wohl sind morphogenetische Effekte festzustellen, aber die biochemischen Differenzen, die zweifellos eine Rolle spielen, sind nicht ohne weiteres zu fassen.

Ursprünglich (d.h. zur Zeit Th. Boveris, s. BALTZER 1962)<sup>1</sup> war die Disharmonie zwischen verschiedenen Kernbestandteilen nicht scharf fassbar gewesen, man konnte nur das Nichtzusammenpassen verschiedener andersartiger Chromosomensätze feststellen. Nun hat sich in den letzten Jahren die Vermutung aufgedrängt, dass es hier nicht allein um quantitativ morphogenetische Fragen geht, sondern um eine bis ins letzte definierte biochemische Erbsubstanz, die mit rein cytologischen Methoden vermutlich nicht angepackt werden kann. Auch hier tat sich für die künftige entwicklungsphysiologische Arbeit an Echinodermkeimen ein molekular-biochemisches Gebiet auf. Die Frage nämlich nach den tieferen biochemischen Ursachen in der Disharmonie verschiedener Chromosomensätze.

Genau wie bei den Versuchen BALTZERS an Amphibiennormalkeimen von chimärischer Natur trat auch bei den Seeigelkeimen eine unerwartete Variabilität im Grad der intrazellulären und intrablastematischen Toleranz innerhalb von Geweben zutage.

Stillschweigend wurde zunächst vorausgesetzt, dass bei Bastardmerogonen die grossen Unterschiede in der Verträglichkeit nur in den Differenzen differenzierter genetischer Merkmale zu suchen seien wie bei den Bastardmerogonen oder bei den Merogonen der schwarzen und weissen Axolotlrasse. Entsprechendes konnte angenommen werden für die Bastardmerogone von Triton taeniatus oder vulgaris oder alpestris. Etwas ähnliches könnte auch gelten für die verschiedenen Bastardmerogone von Seeigelkeimen.

Als man im Zusammenhang mit der Initiative BALTZERS begann, Artbastarde und Bastardmerogone herzustellen, war man sich nicht bewusst, dass die artgeschichtlich gegebene Struktur

---

<sup>1</sup> Biographie von Th. Boveri: s. u. a.:  
BALTZER F. 1962.

einer Amphibienlarve oder eines Seeigelkeimes nicht von denselben vergleichbaren Faktoren in der Evolution geprägt worden sei. Für die Evolution kommt es darauf an, dass sich ein Merkmalskomplex von grosser Stabilität und zugleich grossem Selektionswert als *Ganzes* durchsetzt, während es auf die Zahl der beteiligten Genfaktoren wesentlich weniger anzukommen scheint.

So bekommt das von BALTZER aufgegriffene Problem der Artbastarde und der Merogone einen ausgesprochen evolutionistischen Aspekt, wobei zunächst keine genauere Aussage darüber möglich ist, wie reich im einzelnen Fall die involvierten Genkomplexe an Einzelgenen sind.

#### 4. DIE ENTWICKLUNGSPHYSIOLOGISCHE UND MORPHOGENETISCHE VERTRÄGLICHKEIT ALS SCHLÜSSELKRITERIUM DER TRANSPLANTATION BEI CHIMÄRISCHEN MEROGONEN<sup>1</sup>

Die mehr oder weniger grosse Verträglichkeit von Chimären bei Zellteilen (Plasma oder Kern), Zellen und Blastemen untereinander stellt das wertvollste Schlüsselkriterium in BALTZERS Versuchen dar.

Wohl steht das *biologische* Verhalten von chimärischen Implantaten mit seinen besonderen cytologischen und biochemischen Besonderheiten im Vordergrund der Betrachtung. Aber ebenso wichtig bleibt es für die feinere Analyse, den Verlauf des *morphologischen* Verhaltens am gegebenen Implantatsort genauer zu erfassen. Hier liegen wertvolle Kennzeichen für die entwicklungsphysiologisch-genetische Konstitution von Implantaten vor. Denn wir dürfen wohl annehmen, dass die Entwicklungsgeschichte eines chimärischen Implantats immer vorbestimmt ist durch die evolutive Vorgeschichte des Spenderorganismus. Diese kann nicht allein durch biometrische oder biochemische Messungen irgendwelcher Art allein festgelegt werden. Die von BALTZER begründete

<sup>1</sup> Entwicklungsphysiologische und morphogenetische Verträglichkeit bei Chimären: s. z. B.:

BALTZER F. 1943, 1946, 1947, 1949,  
BALTZER F. 1950, BALTZER F. und CHEN P. S. 1950, CHEN P. S. und  
BALTZER F. 1951, BALTZER F. 1952, 1957,  
LEUBENBERGER T. 1942, ROSIN S. 1943, ANDRES G. 1948, 1950,  
WAGNER G. 1949, 1955, 1959, EYMANN M. 1957, HENZEN W. 1957.



Methode<sup>1</sup> der Transplantation chimärischer Organteile kann durch die Ermittlung des Grades von Verträglichkeiten oder von Formbildungsleistungen Schlüsselkriterien und Maßstäbe für die Bewertung der stammesgeschichtlichen Verwandtschaft verschiedener Organanlagen innerhalb verschiedener Arten liefern. Leider haben die bis heute erzielten Resultate die gesamte Sachlage bei weitem noch nicht abgeklärt. Aber es liegt hier ein weiteres fruchtbares Experimentierfeld vor, handle es sich hier um das Merogonieproblem bei Echinodermen oder Amphibien oder der Xenoplastik bei Amphibien. Immerhin liegt jetzt schon auf Grund der umfassenden Befunde von BALTZER und seinen Mitarbeitern eine Reihe von Fragestellungen vor, die sehr wohl eine experimentelle Inangriffnahme von Evolutionsproblemen in der Embryologie gestatten würden. Es scheint sich das für die Echinodermen wie auch für verschiedene Amphibiengruppen zu bewahrheiten.

Das Zoologische Institut Bern, sein Mitarbeiter- und Freundeskreis möchten FRITZ BALTZER ihre herzlichsten Wünsche aussprechen für die neuartige Erschliessung experimenteller Methoden und gedanklicher Wege auf dem Gebiete einer modernen evolutionistischen Morphologie. Wir benutzen gerne die Gelegenheit seines 80. Geburtstages, um dem Jubilar unseren besonderen Dank auch für seine nimmermüde und anregende Forschertätigkeit auf diesen Gebieten auszudrücken.

---



## Verzeichnis der Publikationen von F. Baltzer

Zusammengestellt von W. HUBER und P. A. TSCHUMI

- BALTZER F., *Über mehrpolige Mitosen bei Seeigeleiern*. Diss. Universität Würzburg, 1908. Verh. med. phys. Ges. Würzburg, N. F. 39 (1908a).
- *Über die Grösse und Form der Chromosomen bei Seeigelkeimen*. Verh. d. D. Zool. Ges. (1908b).
- *Die Chromosomen von Strongylocentrotus lividus und Echinus microtuberculatus*. Arch. f. Zellf. 2 (1909a).
- *Über die Entwicklung der Echiniden-Bastarde mit besonderer Berücksichtigung der Chromatinverhältnisse*. Zool. Anz. 35, 5—15 (1909b).
- *Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermen-Bastarden*. Habilitationsschrift Universität Würzburg, 1910. Arch. Zellf. 5, H. 4.
- *Zur Kenntnis der Mechanik der Kernteilungsfiguren*. Arch. f. Entw. mech. 500—523, 32 (1911a).
- *Über die Mechanik der Kernteilungsfiguren*. Sitzungsber. d. physikal.-med. Ges. Würzburg, 1911b.
- *Über die Herkunft der Idiochromosomen bei Seeigeln*. Sitzungsber. d. physikal.-med. Ges. Würzburg, 90—94 (1912a).
- *Über die Entwicklungsgeschichte von Bonellia*. Verh. d. D. Zool. Ges., 22. Jahresvers. zu Halle, 252—261 (1912b).
- *Über die Chromosomen der Tachea (Helix) hortensis, Tachea austriaca und der sogenannten einseitigen Bastarde T. hortensis × T. austriaca*. Arch. Zellf. 11, 151—169 (1913).
- *Die Bestimmung und der Dimorphismus des Geschlechtes bei Bonellia*. Sitzungsber. d. physikal.-med. Ges. Würzburg, 1—4 (1914a).

- BALTZER, F., *Entwicklungsgeschichte und Metamorphose des Echinus*. Verh. Schweiz. Naturf., Ges., Sekt. Zool., 1—5 (1914b).
- *Die Bestimmung des Geschlechtes nebst einer Analyse des Geschlechtsdimorphismus bei Bonellia*. Mitt. Zool. Stat. Neapel 22, 1—44 (1914c).
- *Über die Vererbung erworbener Eigenschaften*. Naturwiss. 2, 987—991 (1914d).
- *Über die Vererbung erworbener Eigenschaften (Schluss)*. Naturwiss. 2, 998—1002 (1914e).
- *Theodor Boveri*, Naturwiss. 4, Heft 6 (1916a).
- *Über neuere Versuche zur Vererbung und Bestimmung des Geschlechts*. Mitt. Naturf. Ges. Bern, 1—39 (1916b).
- *Über die Eibildung bei Bonellia viridis*. Verh. physik.-med. Ges. Würzburg 45, 103 bis 110 (1917a).
- *Echiurus abyssalis* Skor. in *Fauna und Flora des Golfes von Neapel*. 34. Monographie, 1. Teil (1917b).
- *Theodor Boveris Lehrtätigkeit*. „Erinnerungen an THEODOR BOVERI“, Tübingen, Verlag von J. C. B. Mohr (1918).
- *Stammesgeschichtliche Entwicklung des mittleren Keimblatts bei wirbellosen Tieren auf Grund neuer Beobachtungen an der Gruppe der Echiuroiden*. Mitt. Naturf. Ges. Bern, 1—2 (1919a).
- *Beiträge zur Entwicklungs- und Stammesgeschichte der wirbellosen Tiere*. Sitzungsber. physik.-med. Ges. Würzburg, 27. März 1919b.
- *Was haben die biologischen Naturwissenschaften an fester Erkenntnis für die Bildung einer Weltanschauung zu bieten?* Aarauer Stud.-konf. 5—46 (1920a).
- *Über mendelnde Raupenrassen bei Lymantria dispar (Schwammspinner)*. Festschr. für Zschokke Nr. 37 (1920b).
- *Über die experimentelle Erzeugung und Entwicklung von Triton-Bastarden ohne mütterliches Kernmaterial*. Verh. Schweiz. Naturf. Ges. Neuenburg, 1—3 (1920c).
- *Zur Kremation Th. Studers, 14. Februar 1922*.
- *Über die Herstellung und Aufzucht eines haploiden Triton taeniatus*. Verh. Schweiz. Naturf. Ges. Bern, 248—249, 2. Teil (1922b).
- *Über die Leistungen der experimentellen Zoologie*. „Neue Zürcher Zeitung“, 143. Jg., Nr. 1257 (1922c).

- BALTZER, F., *Beiträge zur Sinnesphysiologie und Psychologie der Webespinnen*. Mitt. Naturf. Ges. Bern, 1—25, Heft 10 (1923a).
- *Zur Entwicklungsgeschichte und Auffassung des Männchens der Bonellia*. Verh. d. D. Zool. Ges. e. V. 28, 65—68 (1923b).
- *Über Verhalten und Psyche niederer Tiere*. „Der kleine Bund“, Jg. 5, Nrn. 4 und 5 (1924a).
- *Über die Giftwirkung weiblicher Bonellia-Gewebe auf das Bonellia-Männchen und andere Organismen und ihre Beziehung zur Bestimmung des Geschlechts der Bonellienlarve*. Mitt. Naturf. Ges. Bern, 1—20, Heft 8 (1924b).
- *Untersuchungen über die Entwicklung und Geschlechtsbestimmung der Bonellia*. Pubbl. Staz. Zool. Napoli 6, 223—286 (1925a).
- *Über die Giftwirkung der weiblichen Bonellia und ihre Beziehung zur Geschlechtsbestimmung der Larve*. Rev. suisse zool. 32, 87—93 (1925b).
- *Vererbungserscheinungen bei Tieren und Mensch*. „Der kleine Bund“, 1925c.
- *Über die Vermännlichung indifferenter Bonellia-Larven durch Bonellia-Extrakte*. Rev. suisse zool. 33, 359—374 (1926).
- *Zucht- und Versuchsmethoden (Geschlechtsbestimmung) bei Bonellia. Zuchtmethoden bei Thalassema und Echiurus*. Handb. biol. Arbeitsmethoden, Abt. 9, Teil 5, 431—442 (1928a).
- *Die Wegwespe und die Spinne*. „Der kleine Bund“, Jg. 9, Nr. 53 (1928b).
- *Neue Versuche über die Bestimmung des Geschlechtes bei Bonellia viridis*. Rev. suisse zool. 35, 225—231 (1928c).
- *Dr. h. c. Johann Büttikofer, 1850—1927*. Nekrol. z. d. Verh. Schweiz. Naturf. Ges., Lausanne 1928d, 2. Teil, Anhang S. 14—26.
- *Über metagame Geschlechtsbestimmung und ihre Beziehung zu einigen Problemen der Entwicklungsmechanik und Vererbung*. Verh. d. D. Zool. Ges., 32. Jahresvers., 273—325 (1928e).
- BARTELS M. UND BALTZER F., *Über Orientierung und Gedächtnis der Netzspinne Agelena labyrinthica*. Rev. suisse zool. 35, 247—258 (1928).
- BALTZER F., *Über die Entwicklung des Tritonmerogons Triton taeniatus ♀ × cristatus ♂*. Rev. suisse zool. 37, 325—332 (1930a).

- BALTZER, F., *Über die Orientierung der Trichterspinnne Agelena labyrinthica (Cl.) nach der Spannung des Netzes*. Rev. suisse zool. 37, 363—369 (1930b).
- *Die Zusammenarbeit von Plasma and Kern in der tierischen Entwicklung*. Mitt. Naturf. Ges. Bern, 10—12 (1930c).
- *Die Sprache der lebenden Natur*. „Der kleine Bund“, Jg. 12, Nr. 20 (1931a).
- *Die neuen naturwissenschaftlichen Institute an der Muldenstrasse*. Berner Schulbl., 64. Jg., 350—352 (1931b).
- *Entwicklungsmechanische Untersuchungen an Bonellia viridis. I. Die Abhängigkeit der Entwicklungsgeschwindigkeit und des Entwicklungsgrades der männlichen Larve von der Dauer des Rüsselparasitismus*. Rev. suisse zool. 38, 361—371 (1931c).
- *Das Zoologische Institut*. „Der Bund“, Nr. 544 (Die neuen Hochschulbauten in Bern), S. 8 (1931d).
- *Über die ohne Rüsselparasitismus entstehenden Spätmännchen (genetische Männchen) der Bonellia viridis*. Rev. suisse zool. 39, 281—305 (1932).
- *Über die Entwicklung von Triton-Bastarden ohne Eikern*. Verh. d. D. Zool. Ges., 119—126 (1933a).
- *Demonstration von männlichen Bonellialarven*. Rev. suisse zool. 40, 243—246 (1933b).
- *Über die Zuchtmöglichkeit der Bonellia viridis ♀ vom Ei bis zum erwachsenen Zustand*. Rev. suisse zool. 41, 407—409 (1934a).
- *Über die Entwicklung der Bastardkombination Triton palmatus ♀ × Salamandra maculosa ♂*. Rev. suisse zool. 41, 405—406 (1934b).
- Priapulida. Sipunculida. Echiurida. Handb. Zool., begr. v. W. Küenthal, 2,2. Hälfte 1 (9) — 168 (9), (1934c).
- *Experiments on Sex-Development in Bonellia*. The Collecting Net 10, Nr. 3, 3—8 (1935).
- *Wissenschaft und Sommerfrische bei den amerikanischen Biologen*. „Der kleine Bund“, Jg. 17, Nr. 20 (1936a).
- *Über die Universitäten in den Vereinigten Staaten*. „Der kleine Bund“, Jg. 17, Nr. 41 (1936b).
- BALTZER F., *Zum Gedächtnis Dr. h.c. Fritz Leuenbergers*. Mitt. Naturf. Ges. Bern, 135—142 (1936c).
- *Dr. G. Surbeck, eidg. Fischereiinspektor, 1875—1936*. Mitt. Naturf. Ges. Bern, 121 bis 134 (1936d).

- BALTZER F. UND DE ROCHE V., *Über die Entwicklungsfähigkeit haploider Triton alpestris-Keime und über die Aufhebung der Entwicklungshemmung bei Geweben letaler bastard-merogonischer Kombinationen durch Transplantation in einen normalen Wirt.* Rev. suisse zool. 43, 495—505 (1936).
- ZURBUCHEN K. UND BALTZER F., *Das Tempo der männlichen, weiblichen und intersexuellen Differenzierung bei Bonellia viridis und die Goldschmidtsche Theorie der Geschlechtsbestimmung.* Rev. suisse zool. 43, 489—494 (1936).
- BALTZER F., *Entwicklungsphysiologische Analyse der Intersexualität.* Rev. suisse zool. 44, 331—352 (1937a).
- *Analyse des Goldschmidtschen Zeitgesetzes der Intersexualität auf Grund eines Vergleiches der Entwicklung der Bonellia- und Lymantria-Intersexe.* — *Zeitlich gestaffelte Wirkung der Geschlechtsfaktoren (Zeitgesetz) oder Faktorengleichzeitigkeit (Gengleichgewicht).* Wilhelm Roux' Arch. f. Entw. mech. der Organismen 136, 1—43 (1937b).
- *Entwicklungsmechanische Untersuchungen an Bonellia viridis. III. Über die Entwicklung und Bestimmung des Geschlechts und die Anwendbarkeit des Goldschmidtschen Zeitgesetzes der Intersexualität bei Bonellia viridis.* Pubbl. Staz. Zool. Napoli 16, 89—159 (1937c).
- *Von der Mannigfaltigkeit des Erbgutes zur Einheit des Individuums.* Rektoratsrede, Dies acad., 26. November 1938a.
- *Die Frühentwicklung des Bastards Triton cristatus ♀ × Triton palmatus ♂.* Rev. suisse zool. 45, 391—394 (1938b).
- *Transplantationen zwischen Axolotl und Triton.* Verh. Schweiz. Naturf. Ges., Chur, 189—190 (1938c).
- *Die Naturkunde als Schule der Beobachtung und des realen Denkens.* Berner Schulbl. 71, 775—778 und 791—793 (1939).
- BALTZER F., SCHÖNMANN H., LÜTHI H. UND BOEHRINGER F., *Analyse der nukleären Letalität bei Urodelenbastarden.* Arch. exp. Zellf. 22, 276—281 (1939).
- BALTZER F., *Über erbliche letale Entwicklung und Austauschbarkeit artverschiedener Kerne bei Bastarden.* Naturwiss. 28, 177—187 und 196—206 (1940a).
- *Das Problem der Teilidentität artverschiedener Kerne im Lichte der Entwicklung embryonaler Bastardtransplantate.* Boll. Soc. ital. Biol. sper. 15, 39—47 (1940b).

- BALTZER, F., *Über das Verhalten ordnungsfremder Pigmentzellen bei Amphibienlarven (Austausch von Ganglienleiste zwischen Hyla und Urodelen)*. Verh. Schweiz. Naturf. Ges. Locarno, 177—180 (1940c).
- *Dank an die Zoologische Station Neapel*. Naturwiss. 28. 799 (1940d).
- *Die Heimatabteilung des Naturhistorischen Museums in Bern*. „Der Bund“, 92. Jg., Nrn. 72 und 76 (1941a).
- *Hans Spemann, der Entdecker des Organisators im tierischen Ei*, † 12. September 1941. „Der kleine Bund“, 22. Jg., Nr. 40, 317—319 (1941b).
- *Untersuchungen an Chimären von Urodelen und Hyla*. Rev. suisse zool. 48, 413 bis 482 (1941c).
- *Anton Dohrn*. „Der kleine Bund“, 22. Jg., Nr. 1, 1—8 (1941d).
- *Über die Pigmentierung merogonisch haploider Bastarde zwischen der schwarzen und weissen Axolotlrasse*. Verh. Schweiz. Naturf. Ges., Basel, 169—171 (1941e).
- *Zum Gedächtnis Hans Spemanns († 12. 9. 1941)*. Naturwiss. 30, 229—239 (1942a).
- *Über Einheit und Spezialisierung in der tierischen Entwicklung*. Verh. Schweiz. Naturf. Ges., Sitten, 59—66 (1942b).
- *Erfahrungen der neueren Erbforschung und ihre Verwendbarkeit in der Haustierzucht*.
- *Der Maler Leo Steck*. „Der kleine Bund“, 24. Jg., Nr. 46, 366 (1943a).
- *Erbgut und Umwelt, Faktoren der menschlichen individuellen Entwicklung*. Jahrb. Ver. Schweiz. Gym.-Lehrer, 15—47 (1943b).
- *Weitere Beobachtungen an Pigmentchimären von Amphibien*. 3. Jahresb. Schweiz. Ges. Vererbungsf. 18, 664—671 (1943c).
- *Forschung und Leben*. „Der kleine Bund“, 24. Jg., Nr. 51, 405—406 (1943d).
- *Über Entwicklung und Funktion verpflanzter Organe im Organismus artfremder Wirte (Transplantationen zwischen Unken- und Molchkeimen)*. Sitzung Naturf. Ges. Zürich, 7. Januar 1946.
- *Weitere Beobachtungen an merogonischen Bastarden der schwarzen und weissen Axolotlrasse*. Rev. suisse zool. 54, 260—269 (1947).
- *Entwicklungsphysiologische Analyse von Artbastarden*. XIII<sup>e</sup> Congrès int. zool., 21—27. Juli 1948.



- BALTZER, F., *Entwicklungsphysiologische Beiträge zum Problem der Evolution*. Sitzung Naturf. Ges. Zürich, 7. November 1949a.
- *Die freilebenden Säugetiere der Schweiz*. „Der Bund“, Nr. 591, Jg. 1949b.
- BALTZER F., ANDRES G. und ROTH H., *Über Entwicklung und Funktion xenoplastischer Organe in Triton- Bombinator- Chimären*. Proc. 8. Internat. Congress Gen. (Hereditas, Suppl. 148—155 (1949).
- BALTZER F., *Chimären und Merogone bei Amphibien*. Rev. suisse zool. 57, 93—114 (1950a).
- *Über Bildungsprobleme in den USA*. Berner Schulbl., 83. Jg., 585—600 (1950b).
- *Entwicklungsphysiologische Betrachtungen über Probleme der Homologie und Evolution*. Rev. suisse zool. 57, 451—477 (1950c).
- BALTZER F. und SCHÖNMANN W., *Über die Letalität des Bastards Triton palmatus ♀ × Salamandra atra ♂*. Rev. suisse zool. 54, 495—502 (1951).
- BALTZER F. und CHEN P. S., *Chimärische Haftfäden bei Triton- Unken-Chimären*. Exper. 7, 140 (1951).
- CHEN P. S. und BALTZER F., *Investigations on the determination of the adhesive glands in Bombinator pachypus (Xenoplastic transplantations)*. Rev. suisse zool. 58, 522 bis 529 (1951).
- BALTZER F., *Entwicklungsphysiologische und genetische Betrachtungen zur Bildung geistiger Eigenschaften beim Menschen*. Verh. Schweiz. Naturf. Ges. Bern, 11—25 (1952a).
- *Einige Beobachtungen über Sichelgänge bei Bienenvölkern verschiedener Herkunft*. Arch. Jul.-Klaus-Stiftung 27, 197—206 (1952b).
- *Experimentelle Beiträge zur Frage der Homologie*. Exper. 8, 285—324 (1952c).
- *The behaviour of nuclei and cytoplasm in amphibian interspecific crosses*. Symp. Soc. exp. Biol. Nr. 6, 230—242 (1952d).
- BALTZER F., HARDING C. und MEYER P., *Über die Letalität und das Verhalten der Kerne beim Seeigelbastard Psammechinus × Arbacia*. Mitgeteilt Jahresvers. Schweiz. Zool. Ges., Basel, 8. März 1953. Rev. suisse zool. 60 (1953).
- CHEN P. S. und BALTZER F., *Chimärische Haftfäden nach xenoplastischem Ektodermaustausch zwischen Triton und Bombinator*. Wilh. Roux' Arch. Entw. mech. 147, 214—258 (1954).

- BALTZER F., HARDING C., LEHMANN H. E. und BOPP P., *Über Entwicklungshemmungen der Seeigelbastarde* *Paracentrotus* ♀ × *Arbacia* ♂ und *Psammechinus* ♀ × *Arbacia* ♂. *Rev. suisse zool.* **61**, 402—416 (1954).
- BALTZER F., *Finalisme et physicisme* (Symposium veranstaltet von der Schweiz. Ges. zur Pflege der Logik und Philosophie der Wissenschaften). *Verh. Schweiz. Naturf. Ges.*, Porrentruy, 94—98 (1955a).
- *Theodor Boveri (Ein Wegbereiter der Vererbungs- und Zellforschung)*. *Gestalter unserer Zeit* Bd. 4: Erforscher des Lebens 183—192, Oldenburg (1955b).
- BALTZER F. und BERNHARD M., *Weitere Beobachtungen über Letalität und Vererbungs-Richtung beim Seeigelbastard* *Paracentrotus* ♀ × *Arbacia* ♂. *Exp. Cell Research*, Suppl. 3, 16—26 (1955).
- BALTZER F., *Über Xenoplastik, Homologie und verwandte stammesgeschichtliche Probleme*. (H. Bluntschli zum 80. Geburtstag), *Mitt. natforsch. Ges. Bern*, NF 15, 1—23 (1957).
- CHEN P. S. and BALTZER F., *Species-specific differences in free amino-acids and peptides in sea-urchin eggs and embryos (pure species and hybrids)*. *Nature* **181**, 98—100 (1958).
- BALTZER F., CHEN P. S. and WHITELEY A. H., *Biochemical Studies on sea-urchin hybrids*. *Exp. Cell Research*, Suppl. 6, 192—209 (1958).
- WHITELEY A. H. and BALTZER F., *Development, respiratory rate and content of desoxyribonucleic acid in the hybrid* *Paracentrotus* ♀ × *Arbacia* ♂. *Pubbl. Staz. zool. Napoli* **30**, 402 (1958).
- BALTZER F. und CHEN P. S., *Über das zytologische Verhalten und die Synthese der Nukleinsäuren bei den Seeigelbastarden* *Paracentrotus* ♀ × *Arbacia* ♂ und *Paracentrotus* ♀ × *Sphaerechinus* ♂. *Rev. suisse zool.* **67**, 183—193 (1960).
- BALTZER F., CHEN P. S. und TARDENT P., *Embryonalentwicklung, DNS-Synthese und Respiration des Bastards* *Arbacia* ♀ × *Paracentrotus* ♂ mit Vergleichen zu anderen Seeigelbastarden. *Arch. Jul.-Klaus-Stiftg.* **36**, 126—135 (1961).
- BALTZER F., *Zur Geschichte der Chromosomenlehre*. *Verh. Schweiz. Naturf. Ges. Scuol.* 154—155 (1962a).
- Theodor Boveri (Leben und Werk eines grossen Biologen 1862—1915)*. In: *Grosse Naturforscher* Bd. 25, Stuttgart (1962b).

- CHEN P. S. and BALTZER F., *Experiments concerning the incorporation of labelled Adenine into ribonucleic acid in normal sea-urchin embryos and in the hybrid Paracentrotus ♀ × Arbacia ♂*. *Experientia* 18, 522 (1962).
- BALTZER F. und HUBER W., *Prof. Dr. Franz Baumann 1885—1961*. *Mitt. natforsch. Ges. Bern NF* 19, 167—177 (1962).
- BALTZER F., *Theodor Boveri und die Entwicklung der Chromosomentheorie der Vererbung*. (Zu Boveris 100. Geburtstag am 12. Oktober 1962). *Naturwiss.* 50, 141—146 (1963a).
- *Theodor Boveri*. *Mitt. Verh. D. Biol. (Beilage z. Naturw. Rundsch.)* 385—392 (1963b).

ARBEITEN, UNTER DER LEITUNG  
VON PROF. F. BALTZER ENTSTANDEN (1923-1959)

- JUNKER H., *Cytologische Untersuchungen an den Geschlechtsorganen der halbzwittrigen Steinfliege Perla marginata (Panzer)*. *Arch. Zellf.* 17 (1923).
- FANKHAUSER G., *Analyse der physiologischen Polyspermie des Triton-Eies auf Grund von Schnürungsexperimenten*. *Wilh. Roux' Arch. Entw. mech.* 105, 501—580 (1925).
- HAEMMERLI-BOVERI V., *Über die Determination der sekundären Geschlechtsmerkmale (Brutsackbildung) der weiblichen Wasserassel durch das Ovar*. *Z. vergl. Physiol.* 4, 668—698 (1926).
- BARTELS M., *Sinnesphysiologische und psychologische Untersuchungen an der Trichterspinne Agelena labyrinthica (Cl.)*. *Z. vergl. Physiol.* 10, 527—593 (1929).
- *Über den Fressmechanismus und den chemischen Sinn einiger Netzspinnen*. *Rev. suisse zool.* 37, 1—42 (1930).
- MICHEL F., *Über die Larve und die Entwicklung des Männchens der Bonellia fuliginosa Rol.* *Pubbl. Staz. Zool. Napoli* 10, 1—45 (1930).
- HADORN E., *Über Organentwicklung und histologische Differenzierung in transplantierten merogonischen Bastard-Geweben [Triton palmatus ♀ × Triton cristatus ♂]*. *Wilh. Roux' Arch. Entw. mech.* 125, 495—565 (1932).
- HOLZAPFEL M., *Die nicht-optische Orientierung der Trichterspinne Agelena labyrinthica (Cl.)*. *Z. vergl. Physiol.* 20, 55—116 (1933).

- GLAUS H., *Erzeugung, Organisation und Entwicklungsmechanik der Rüsselzucht-Intersexe von Bonellia viridis*. Pubbl. Staz. Zool. Napoli 13, 39—113 (1933).
- LOOSLI M., *Über die Entwicklung und den Bau der indifferenten und männlichen Larven von Bonellia viridis* Rol. Pubbl. Staz. Zool. Napoli 15, 16—59 (1934).
- NOWINSKI W. W., *Die vermännlichende Wirkung fraktionierter Darmextrakte des Weibchens auf die Larven der Bonellia viridis*. Pubbl. Staz. Zool. Napoli 14, 110 bis 145 (1934).
- ZIMMERMANN E. W., *Untersuchungen über den Bau des Mundhöhlendaches der Gewebespinnen*. Rev. suisse zool. 41, 149—176 (1934).
- CURRY H. A., *Über die Entkernung des Tritoneies durch Absaugen des Eifleckes und die Entwicklung des Tritonmerogons* Triton alpestris ♀ × Triton cristatus ♂. Wilh. Roux' Arch. Entw. mech. 134, 694—715 (1936).
- HADORN E., *Die entwicklungsphysiologische Auswirkung der disharmonischen Kern-Plasmakombination beim Bastardmerogon* Triton palmatus ♀ × Triton cristatus ♂. Wilh. Roux' Arch. Entw. mech. 136, 400—489 (1937).
- DE ROCHE V., *Differenzierung von Geweben und ganzen Organen in Transplantaten der bastardmerogonischen Kombination* Triton alpestris ♀ × Triton palmatus ♂. Wilh. Roux' Arch. Entw. mech. 135, 620—663 (1937).
- ZURBUCHEN K., *Entwicklungsmechanische Untersuchungen an Bonellia viridis. — II. Entwicklung der Intersexe und sexuelle Variabilität bei Bonellia viridis in Versuchen mit abgekürztem Rüsselparasitismus*. Pubbl. Staz. Zool. Napoli 16, 28—79 (1937).
- BOEHRINGER F., *Über die Kernverhältnisse und die Entwicklung der merogonischen Amphibienbastarde* Triton ♀ × Salamandra ♂. Wilh. Roux' Arch. Entw. mech. 138, 376—422 (1938).
- LÜTHI H. R., *Die Differenzierungsleistungen von Transplantaten der letalen Bastardkombination* Triton ♀ × Salamandra ♂. Wilh. Roux' Arch. Entw. mech. 138, 423 bis 450 (1938).
- SCHÖNEMANN W., *Der diploide Bastard* Triton palmatus ♀ × Salamandra ♂. Wilh. Roux' Arch. Entw. mech. 138, 345—375 (1938).
- LEUENBERGER T., *Das Verhalten der Farbzellen von Triton in Larven der Unke Bombinator pachypus bis zur Metamorphose*. Mit-

- geteilt Jahresvers. Schweiz. Zool. Ges., Freiburg, 28. und 29. März 1942. Rev. suisse zool. 49, (1942).
- ROSIN S., *Experimente zur Entwicklungsphysiologie der Pigmentierung bei Amphibien*. Rev. suisse zool. 50, 485—578 (1943).
- STAUFFER E., *Versuche zur experimentellen Herstellung haploider Axolotl-Merogone*. Rev. suisse zool. 52, 231—327 (1945).
- ANDRES G., *Untersuchungen an Chimären von Triton und Bombinator. I. Entwicklung xenoplastischer Labyrinth und Kopfganglien*. Genetica 24, 2—148 (1948).
- WAGNER G., *Die Bedeutung der Neuralleiste für die Kopfgestaltung der Amphibienlarven*. Rev. suisse zool. 56, 519—620 (1949).
- ROTH H., *Die Entwicklung xenoplastischer Neuralchimären*. Rev. suisse zool. 57, 623 bis 684 (1950).
- ANDRES G., *Untersuchungen an Chimären von Triton und Bombinator. II. Die funktionelle Einordnung von ordnungsfremden Labyrinth-Akustikus-Systemen*. Z. vergl. Physiol. 32, 1—28 (1950).
- MORGENTHALER H. U., *Zytologische und histochemische Untersuchungen an diploiden und haploiden Keimen von Triton alpestris*. Rev. suisse zool. 58, 572—604 (1951).
- WAGNER G., *Chimärische Zahnanlagen aus Triton-Schmelzorgan und Bombinatorpapille*. J. Embryol. and exp. Morph. 3, 160—188 (1955).
- EYMANN H., *Weitere Untersuchungen an xenoplastischen Neuralchimären von Triton und Bombinator*. Wilh. Roux' Arch. Entw. mech. 149, 267—332 (1957).
- HENZEN W., *Transplantationen zur entwicklungsphysiologischen Analyse der larvalen Mundorgane bei Bombinator und Triton*. Wilh. Roux' Arch. Entw. mech. 149, 387—442 (1957).
- WAGNER G., *Untersuchungen an Bombinator-Triton-Chimären. Das Skelett larvaler Triton-Köpfe mit Bombinator-Mesoderm*. Wilh. Roux' Arch. Entw. mech. 151, 136—158 (1959).
-



# An analysis of the role of sulfate in the embryonic differentiation of the sea urchin (*Paracentrotus lividus*)

by

**John RUNNSTRÖM, Sven HÖRSTADIUS, Janis IMMERS and  
Molly FUDGE-MASTRANGELO<sup>1</sup>**

The Wenner-Green Institute, University of Stockholm,  
and Zoological Institute, University of Uppsala

With 17 text figures.

HERBST (1904) first described the effect of lack of sulfate on the development of the sea urchin. He reared the larvae in artificial sea water devoid of sulfate ions. It turned out that sulfate belongs to the ions necessary for the sea urchin development, but the effect of its absence became evident only in late blastula and following stages. HERBST, who gave a careful description of the disturbances which occur, found that the larvae reared in sulfate-free sea water become radialized or animalized (according to LINDAHL's (1933) terminology). In the former case, the proportions between ectoderm and endo-mesoderm are not or only slightly changed but the bilateral organization of the larva is suppressed. The normal predominance of the two centers of skeleton formation is lacking; a certain number of smaller triradiate pieces appear. No arms are formed and the acron region is hypertrophic to a varying extent. A pronounced animalization means that the endomesoderm is

---

<sup>1</sup> Present address: Dept. of Biology, Yale University, New Haven, Conn.

decreased or suppressed with a corresponding enlargement of the ectoderm in which the animal character is reinforced, particularly by an extension of the acron area. This area is carrier of the stereocilia and the degree of extension of the tuft of stereocilia has served as a semiquantitative measure of the degree of animalization (HÖRSTADIUS, 1935). Radialization represents a weaker degree of animalization. BÄCKSTRÖM (1953) found, for example, that eggs and larvae are sensitive to the animalizing action of 0-iodosobenzoate only during a certain limited period of the development. Radialization may result either because the agent was used in a concentration too low to produce the full effect or in periods of decreased susceptibility. Under the effect of sulfate free sea water similar transitions between different degrees of animalization and radialization were found.

LINDAHL (1936) made important contributions to the analysis of the role of sulfate in the sea urchin development, cf. further LINDAHL and STORDAHL (1937), SWEDMARK (1954) and LINDAHL's comprehensive survey of the developmental physiology of the sea urchin (1941). The main points established in the work referred to are the following: There is a decline in respiration when the effect of lack of sulfate becomes visible. This is due to the production of harmful substances in the vegetal region. These substances spread to and damage also the animal region. A separated animal fragment is more resistant to lack of sulfate than is the animal region of a non-fragmented egg, whereas vegetal halves differentiate less and are more strongly injured in sulfate free medium than are the animal halves. Eggs reared in sulfate free medium release more harmful substances than do eggs developing in normal sea water. Sulfate seems to serve as a detoxifying agent. SWEDMARK (1954) demonstrated that the incorporation of  $^{35}\text{S}$ -labelled sulfate increases at the stage when the sea urchin embryo commences to be sensitive to lack of sulfate. These studies tended to demonstrate that specific differences in metabolism prevail between animal and vegetal regions of developing sea urchin eggs. The red pigment that appears in a number of mesenchyme cells is a typical product of vegetal metabolism; its dependence on the presence of sulfate was earlier demonstrated by HERBST. One of these writers, IMMERS (1961 a), has made a more elaborate study of the incorporation of  $^{35}\text{S}$ -labelled sulfate and pointed out certain



correlations between rate of incorporation and morphogenetic events. Moreover a combined autoradiographic and histochemical study (IMMERS, 1961 b) has allowed certain inferences concerning localization and role of sulfated compounds. These have essentially the character of macromolecular sulfated polysaccharides which combine with proteins and probably also with lipids.

LINDAHL's work was an attempt at characterizing the different metabolic patterns prevailing in the animal and vegetal regions of developing sea urchin eggs and larvae. When continuing this work it seemed in first place urgent to make observations on a larger scale of the differences in morphogenesis in animal and vegetal halves reared in normal or sulfate free sea water. These studies should appropriately be combined with observations on incorporation of isotopically labelled precursors. First,  $^{14}\text{C}$ -amino acids were tested. Their incorporation should give an indication of the rate of protein synthesis in developing eggs or fragments. The rate of incorporation would inform about the direct or indirect effect of sulfated compounds (mainly sulfated polysaccharides according to IMMERS (1962)) on the protein metabolism which is the basic event in differentiation. Although the morphogenetic studies were carried to a certain completion, the incorporation experiments are more incomplete. Work is in progress with the aim of extending the present study.

## I. MATERIAL, METHODS and DESIGNATIONS

The gametes of *Paracentrotus lividus* served as material. The eggs were filtered through bolting silk and washed repeatedly in sea water. Dry sperm was collected from testes; it was diluted before use. Some minutes after insemination, the fertilization membrane was removed mechanically from the eggs that were to be separated into animal and vegetal halves. The separation was carried out with the glass needle technique (cf. HÖRSTADIUS, 1935, 1949, 1950) in the 16-32 cell stage after previous transfer to Ca-free sea water. After the operation the halves were transferred to artificial sea water, containing or lacking sulfate. The artificial sea water had the composition indicated by RUNNSTRÖM (1928) on basis of personal communication from BIALASCEWICZ. When sea

water devoid of sulfate was prepared,  $\text{MgSO}_4$  was replaced by an equivalent amount  $\text{MgCl}_2$ . Hydrolyzed  $^{14}\text{C}$ -labelled algal protein served as material for the study of the incorporation of amino acids. Each test contained  $0.5 \mu\text{C } ^{14}\text{C}$  per ml. The exposure lasted for 30 minutes at  $19^\circ$ . The eggs were thereafter fixed in a modified Kahle solution (cf. IMMERS 1961 b); 5-10 minutes later the eggs were transferred to Carnoy's fixation liquid, thereafter in alcohol 95 per cent and finally in absolute alcohol. The embryos were thereafter put on round coverslips and dried (cf. MARKMAN, 1961). Furthermore they were extracted with water (for one hour) and subsequently with 5 per cent trichloroacetic acid ( $70-80^\circ\text{C}$ ) for 45 minutes. The number of embryos on the coverslip (varying between 20-40) was determined and the number of counts assayed in a gas flow counter. The number of counts was referred to 100 larvae.

The operated embryos or larvae were outlined with the help of a camera lucida. A number of operated larvae were also studied in phase contrast. The treatment of an embryo with sulfate-containing or sulfate-free sea water will often be indicated below by putting  $(+\text{SO}_4^-)$  or  $(-\text{SO}_4^-)$  behind the designation of stage etc. The "animal halves" and "vegetal halves" (sometimes abbreviated An and Veg) were considered to represent half the volume of the original embryo. P is sometimes used as abbreviation of "polysaccharide", PS of "polysaccharide sulfate" and  $\text{Pr}^1$  of such proteins that combine with polysaccharide sulfate.

It is proposed to regard all stages, with inclusion of the prism stage, as embryonic, whereas the larval stages begin with the appearance of arms (1. larval or pluteus stage).

In the description of abnormal larvae, particularly vegetal halves in sulfate free sea water, certain difficulties arose. A region of the ectoderm that consists of continuous columnar epithelium will be called acron if it has an animal position and oral if it extends also in more vegetal direction. The remainder of ectoderm that consists of a pavement epithelium of characteristic form will be called "aboral ectoderm". The designations "oral" and "aboral" may not seem appropriate in this context as the pertinent larva do not develop a mouth, but the regions are certainly homologous to the oral and aboral regions of normal larvae.

## II. RESULTS

a) DEVELOPMENT OF WHOLE EGGS IN  $\text{SO}_4$ -FREE SEA WATER

This section presents some characteristic features in the effect of sulfate free sea water.

Fig. 1 represents a control larva in normal sea water, 26 hours after fertilization. It is in the prism stage with clearly developed bilateral symmetry. Figs. 2-4, on the other hand, represent larvae of about the same age that had been transferred from normal sea water to artificial sulfate-free sea water without washing in this latter. This means that the medium still contained low concentrations of sulfate ions. These larvae are rather radially symmetrical. This is manifested, for example, by the lack of the two symmetrical centers of skeleton formation. This agrees so well with HERBST's description that details are not necessary. However, attention was paid to the fact that a considerable extension of the ciliary tuft may occur, although the archenteron seems to be of normal or almost normal size. The following experiment was carried out in order to assure that the endomesoderm had its normal delimitation. In the 64-cell stage, the 8  $\text{veg}_2$  cells + micromeres (cf. HÖRSTADIUS, 1935) were separated from the rest of the egg, stained in Nile blue sulfate and then brought back to their normal place. Seven eggs so treated were reared to gastrulae and the boundary between ecto- and endoderm was found to be at the normal level as shown in Fig. 7a and b. Fig. 7b shows the extension of the ciliary tuft beyond the area it normally occupies.

When the eggs were washed in sulfate free sea water before the final transfer to sulfate-free sea water the animalization of the larvae was much more pronounced than in the cases of Figs. 2-4 and 7. The acron region was enlarged so that the ciliary tuft often covered about half the surface of the larva. The primary mesenchyme cells remained attached to each other, and this group of cells detached themselves rather slowly from their site of immigration. A narrow invagination was confined to the central part of the vegetal region. It represented a rudimentary archenteron, on the top of which the group of primary mesenchyme cells was located. The general form of the larvae is shown in Figs. 5 and 6. In the

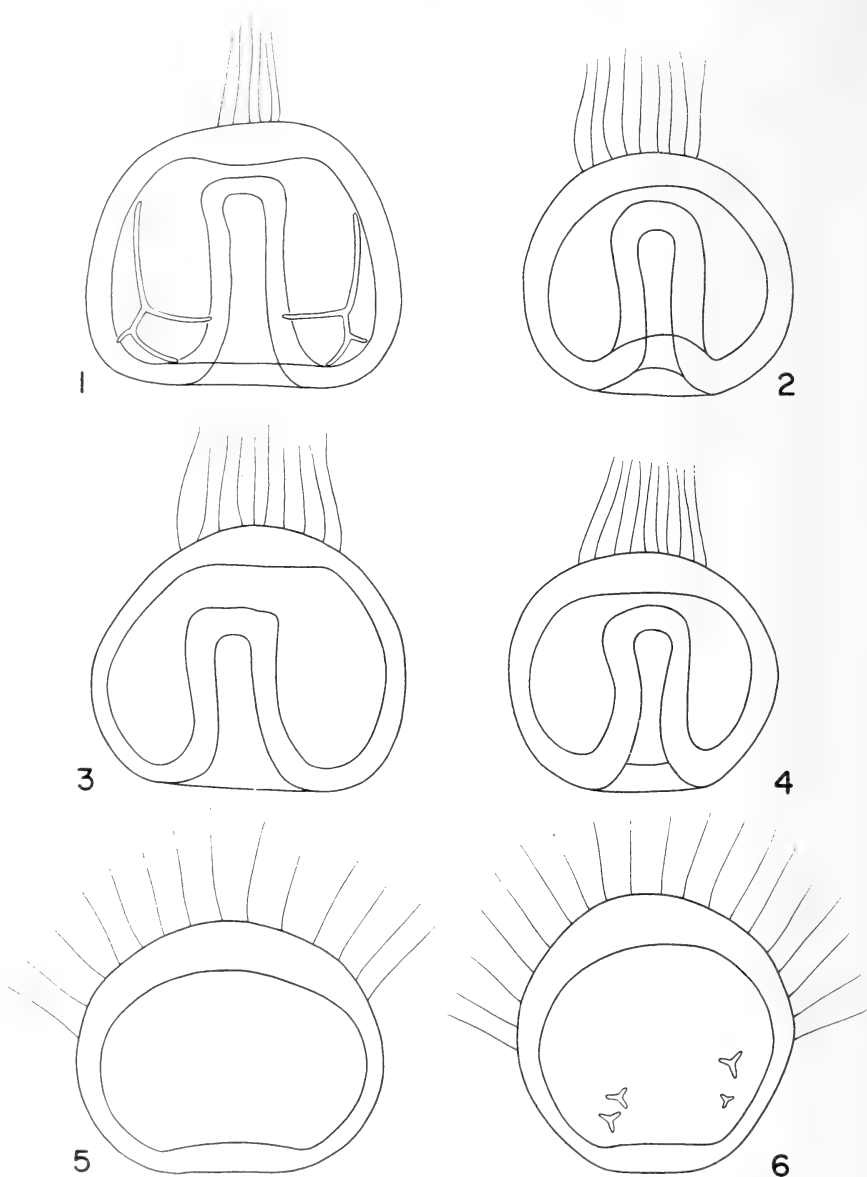


FIG. 1. — Bilateral late gastrula or prism stage from a culture reared in normal sea water. FIG. 2-4. — Gastrulae from a test culture transferred soon after fertilization into sulfate free sea water. The last traces of sulfate had not been removed by washing the eggs. FIG. 5-6. — Animalized embryos from a culture transferred soon after fertilization into sulfate free sea water followed by a washing in this medium. FIG. 1-6 320  $\times$ .

latter some triradiate skeleton rudiments were distinguished. These arise when the primary mesenchyme cells eventually dissociate and spread from their original central position.

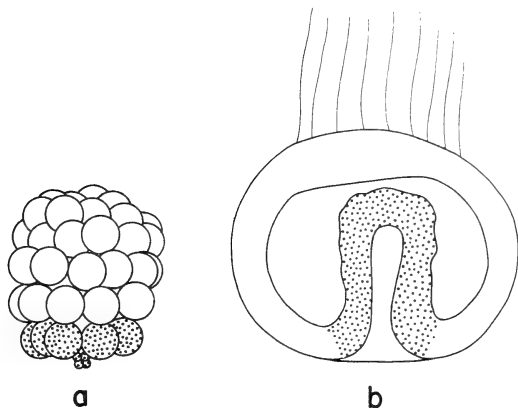


FIG. 7.

*a*, Staining of the veg 2 cell ring of an embryo treated with sulfate free sea water in the same way as the larve of Fig. 2-4; *b*, The whole endoderm stained in the late gastrula stage proving that no part of the presumptive endoderm has been converted into ectoderm. 320  $\times$ .

#### *b*) DEVELOPMENT OF ANIMAL AND VEGETAL HALVES IN SULFATE-FREE SEA WATER

The first experiments were carried out in the spring of 1961, another series resulted from the work in the spring season of 1962. The two series were carried out by two different workers (M. MAS-TRANGELO 1961 and S. HÖRSTADIUS 1962). Different judgement seems to have influenced the results only to a slight extent. It was obvious, however, that in the two seasons the material behaved in slightly different ways. In 1961, the animalization tested by the extension of the ciliary tuft was in general strong even in the animal fragments reared in normal sea water. This gave no good opportunity for studying an increase in animalization which was expected to occur as a consequence of rearing the fragments in sulfate-free sea water. Nevertheless it was evident that, even in the experiments of 1961, a certain increase in animalization occurred in the animal halves reared in sulfate-free sea water. These latter

appeared darker in phase contrast than the animal halves reared in normal sea water. As earlier demonstrated (cf. RUNNSTRÖM (1957) and (1961 a)), the ectodermic cells become darker when the larva becomes animalized and there is a certain correlation between this "darkening" and the degree of animalization.

TABLE 1.

*Animal halves of Paracentrotus lividus (1962) reared in normal (+SO<sub>4</sub><sup>=</sup>) and sulfate free sea water (—SO<sub>4</sub><sup>=</sup>) for about 24 hours. The figures 3/4, 4/4 etc. indicate how great part of the area of the fragment was covered by acron and ciliary tuft. Their extension beyond the area found in normal whole larvae is a measure of the degree of animalization. The figures indicate the number of embryos within the different categories.*

	3/4-4/4	1/2	1/3	1/4	1/5-1/6	Total number of fragments
+ SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	10	46	38	54	33	181
— SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	109	45	23	1	0	178

TABLE 2.

*Animal halves of Paracentrotus lividus (1962) reared for about 45 hours in normal (+SO<sub>4</sub><sup>=</sup>) and sulfate free (—SO<sub>4</sub><sup>=</sup>) sea water. The ciliary tuft (cf. Table 1) was replaced by motile cilia. A: the acron region occupied the whole area, Ba: more than half the area, Bb: less than half the area of the animal fragment. C: a ciliary band surrounded an oral field, D: as C but a stomodeum rudiment had appeared within the oral field. The figures indicate the number of embryos within the different categories.*

	A	Ba	Bb	C	D	Total number of fragments
+ SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	36	45	90	32	3	206
— SO <sub>4</sub> <sup>=</sup>	153	25	12	0	0	190

The tendency to animalization was less strong in the following spring season (1962). The degree of animalization was estimated

by the degree of extension of the ciliary tuft (cf. HÖRSTADIUS, 1935). It follows from Table 1,  $+\text{SO}_4^-$ , that about half the material has a comparatively weak extension of the ciliary tuft such as 1/6-1/4. In only 5 per cent of the material did the expansion attain the degree  $\frac{3}{4}$ -4/4. It follows from the same table how different the differentiation was in the  $-\text{SO}_4^-$ -series where the lower degrees of extension were hardly represented, but 61 per cent of the embryos attained the maximum degree of extension of the ciliary tuft.

Table 2 refers to the animal halves that in 1962 had been reared for about 42 hours, in normal and sulfate-free sea water. Again a considerable difference in distribution of the material between the different classes occurs. In  $+\text{SO}_4^-$  a more symmetrical distribution with highest frequency in Bb is found, whereas in  $-\text{SO}_4^-$  the greatest part of the material belongs to the extreme category A.

TABLE 3.

*Vegetal halves of Paracentrotus lividus reared in normal ( $+\text{SO}_4^-$ ) and sulfate free sea water ( $-\text{SO}_4^-$ ) for about 45 hours. The figures indicate per cent of the different categories of larvae.*

Material 1961	a Exogastrulae	b Ovoid larvae		c Tendency to pluteus organization	Total number of fragments
		I	II		
+ SO <sub>4</sub> <sup>−</sup>	3	35	35 <sup>1</sup>	27%	66
		70			
— SO <sub>4</sub> <sup>−</sup>	36	60	4	—	70
		64			
Material 1962	I	II <sup>2</sup>			
+ SO <sub>4</sub> <sup>−</sup>	11	9	60	20	170
	20				
— SO <sub>4</sub> <sup>−</sup>	50	19	36	7	112
	69				

<sup>1</sup> I strictly ovoid, II transition forms of different degrees to category C.

<sup>2</sup> I full exogastrulation, II partial gastrulation.

Table 3 gives a survey of the distribution of ca. 45 hours old vegetal halves among three classes. Both the material of 1961 and that of 1962 were included in the table. The data demonstrate that the development of larvae with tendency to pluteus organization was kept back in  $-\text{SO}_4^-$ . Instead the number of exogastrulae is considerably greater in  $-\text{SO}_4^-$  than in  $+\text{SO}_4^-$ . In the 1962 material the exogastrulae were divided into two subclasses: I, where the exogastrulation was complete, and II, where the exogastrulation was partial. The subclass I dominated in  $-\text{SO}_4^-$ , whereas in  $+\text{SO}_4^-$  the material was rather equally distributed between the two subclasses. In 1961, on the other hand, the ovoid larvae were subdivided into two subclasses: I, with less differentiation, and II which is intermediary between ovoid larvae and those with tendency to pluteus organization. The subclasses I and II were equal in  $+\text{SO}_4^-$  whereas the subclass I with less differentiation predominated in  $-\text{SO}_4^-$ . The higher organization in subclass II was manifested by the subdivision of the intestine, by a stronger development of the skeleton and by a tendency to formation of ciliary band.

The tendency to vegetalization was greater in the material of 1962 than in that of 1961. Even in  $+\text{SO}_4^-$  there was a fair number of exogastrulae in the first mentioned material. This was correlated with the lower tendency for animalization that was mentioned above, cf. further HÖRSTADIUS (1935).

$\chi^2$ -tests showed that the differences between the distributions of the different classes of larvae was highly significant in Tables 1, 2 and 3. The data presented in the Tables of this section thus show definitely that rearing of the fragment embryos in  $\text{SO}_4$ -free sea water causes an additional animalization of the animal halves and a vegetalization of the vegetal halves.

#### c) SOME DETAILS CONCERNING MORPHOGENESIS IN ANIMAL AND VEGETAL HALVES

Tables 1 and 2 give sufficient information about the variation of the animal halves ( $+\text{SO}_4^-$ ) and ( $-\text{SO}_4^-$ ). The former were swimming more actively than the latter. This is in correlation to the greater extension of the tuft of non motile stereocilia in the animal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ). Often the elimination of the stereocilia



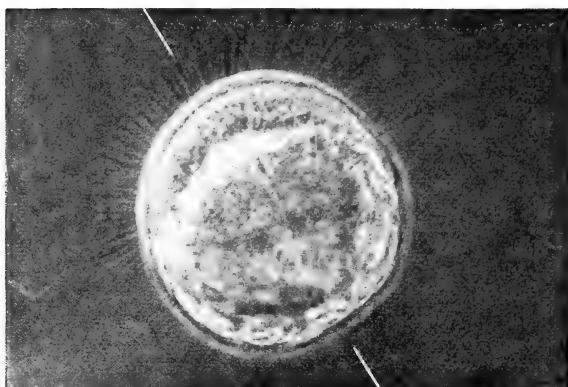


FIG. 8.

Animal half separated in the 16-cell stage and then reared for ca. 42 hours in normal sea water. Ciliary tuft replaced by motile cilia. 330  $\times$ .

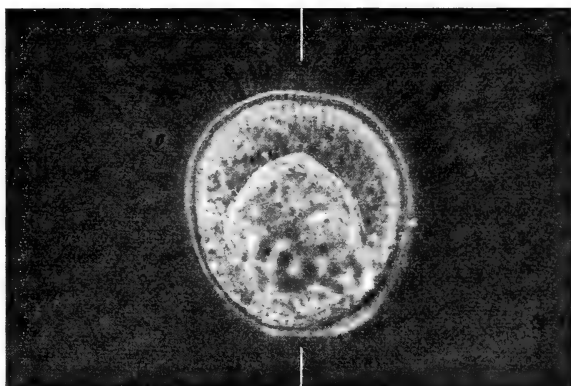


FIG. 9.

Animal half from the same egg material as that of Fig. 7. Separated in the 16-cell stage and thereafter reared for ca. 42 hours in sulfate free sea water. Ciliary tuft still present. 330  $\times$ .

was delayed in the animal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ). Fig. 8 represents an animal half ( $+\text{SO}_4^-$ ) about 45 hours after insemination in which the cilia of the acron cells were short and motile, whereas in the animal half ( $-\text{SO}_4^-$ ) of Fig. 9 the stereocilia were still present, and the acron covered a greater part of the area of the embryo than in the animal half ( $+\text{SO}_4^-$ ). In the acron of the latter (Fig. 9) dark

patches were seen. These seemed to represent nuclei with surrounding dense material, as was born out by electron microscopic observations.

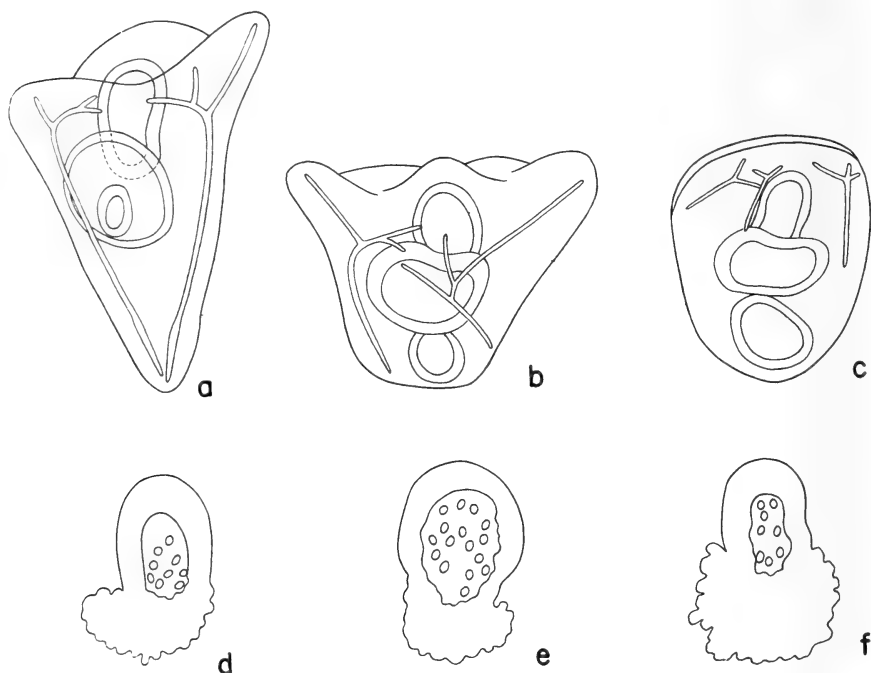


FIG. 10.

*a, b, c* represent animal halves reared in sulfate containing sea water; *d, e, f* represent some vegetative halves reared in sulfate free sea water. 320  $\times$ .

The vegetative halves ( $+\text{SO}_4^-$ ) and ( $-\text{SO}_4^-$ ), see Fig. 10 upper and lower row, had a greater range of variation than the corresponding animal halves. Larvae with tendency to pluteus organization and exogastrulae may be present within the same material. Fig. 10 upper row represents larvae ( $+\text{SO}_4^-$ ) of the first mentioned kind. An oral field but no stomodeum had developed. The skeleton was almost typical (a) or typical on one side and very atypical on the other (b). A third larva (c) was ovoid with radially symmetrical arrangement of rudimentary skeleton pieces. The exogastrula ( $+\text{SO}_4^-$ ) represented in Fig. 11 was from a batch of eggs also containing larvae of the type represented in the upper

row of Fig. 10. An aggregate of immobilized mesenchyme cells without recognizable boundaries was present within the everted intestine. Other cells had succeeded, however, in immigrating into the ectodermal region. These cells were separate from each other and several of them showed indications of pseudopodia.

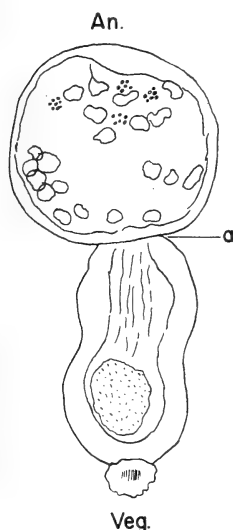


FIG. 11.

Vegetal half. Exogastrula with major part of the mesenchyme present beneath the ectodermic epithelium. An, Veg. animal and vegetal direction; a, ectoderm-endoderm boundary. 500  $\times$ .

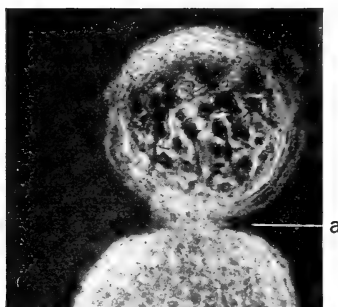


FIG. 12.

Larva from a test culture transferred 60 min. after fertilization to sea water containing 0.04 M  $\text{Li}^+$  and  $4 \times 10^{-4}$  M glutathione, returned to sea water without washing after ca. 28 hours, fixed in 4 per cent formaldehyde 19 hours later; a, ectoderm-endoderm boundary. 500  $\times$ .

The interaction between ectoderm and mesenchyme was studied in larvae which had undergone an exposure for 28 hours to sea water containing 0.04 M LiCl and  $4 \times 10^{-4}$  M glutathione. After this time the concentration of Li and glutathione was diluted to 1/5 by adding sea water to the culture. This treatment brought about a rather strong vegetalization of the larvae. These larvae offered good opportunities for studying the behavior of the mesenchyme cells. Fig. 12 shows the ectodermal and the adjacent endodermal region of one of these larvae in phase contrast. The whole endoderm is pale greyish. In the ectoderm there is a cap of more cylindrical cells which appear rather dark in phase contrast. Furthermore, mesenchyme cells with numerous pseudopodia show a strong phase contrast effect. These mesenchyme cells had migrated into the ectodermic region. Their site of origin was

within the endomesodermic region, where, as in the larvae of Fig. 10, aggregated pale mesenchyme cells without pseudopodia were visible. The immigration of the mesenchyme cells into the ectoderm was observed in a great number of larvae. Sometimes the neck between ectodermic and endomesodermic region was very narrow; the migrating mesenchyme cells were then elongated so as to assume a thread-like shape. This allowed the mesenchyme cells to pass through the neck.

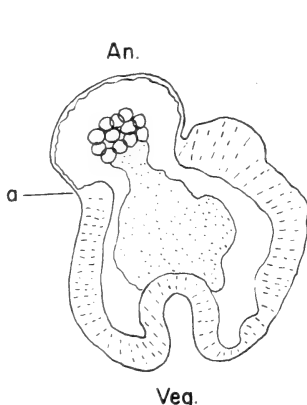


FIG. 13.

Vegetal half separated in the 16-cell stage and reared for ca. 42 hours in sulfate free sea water. An, Veg, animal vegetal direction; a, ectoderm endoderm boundary. 480  $\times$ .

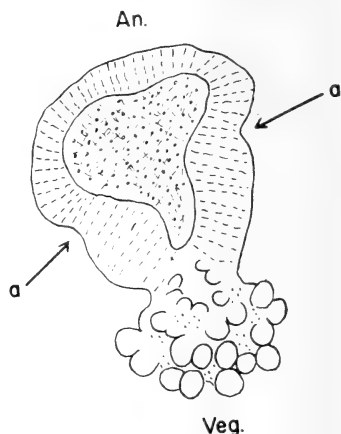


FIG. 14.

Vegetal half from the same test culture as the fragment represented in Fig. 13. An, Veg, animal and vegetal direction; a, ectoderm-endoderm boundary. 400  $\times$ .

This digression on the behavior of the mesenchyme cells in Li treated larvae had the scope of demonstrating a process that plays a role also in the vegetal halves reared in normal sea water. When these have the character of exogastrulae, an immigration of mesenchyme cells into the ectodermal region occurs as described above (Fig. 11). The immigrated cells have a dark appearance in phase contrast. A certain opaqueness of the vegetal halves, however, makes its photographic demonstration more difficult than in the case of the Li larvae.

The behaviour of the mesenchyme cells constitutes a very important difference between the vegetal halves in sea water with or without sulfate. The careful examination of a number of vegetal halves showed that changes of form and migration of mesenchyme cells never or only rarely occurred in vegetal halves

( $-\text{SO}_4^-$ ). The mesenchyme cells remained aggregated or, if some of them were dissociated, no formation of pseudopodia and no "darkening" in phase contrast occurred. In many cases, it was difficult to delimit ecto- and endomesoderm. This did not hold, however, for the vegetal half ( $-\text{SO}_4^-$ ) represented in Fig. 13. In this case, the endomesoderm was extended at the expense of the ectoderm. The archenteron contained a large aggregate of mesenchyme cells. Only a small number were separated from the rest of the cells, but even these formed no pseudopodia and their phase contrast appearance did not differ from that of the rest of mesenchyme cells. The vegetal halves represented in Fig. 10 d, e and f were rather similar to that Fig. 13. They show some different degrees of vegetalization. A great part of the mesenchyme cells have not detached themselves from the archenteron. A certain number are found free in the blastocoel but they show no formation of filopodia and no contact with the ectoderm. The vegetal cells of the archenteron show beginning dissociation.

Fig. 14 represents another vegetal half ( $-\text{SO}_4^-$ ) where a comparison with other cases makes it probable that the limit between ectoderm and endomesoderm corresponded to the shallow constriction (a). Again a dissociation of the cells had occurred in the more distal region of the endomesoderm. The mesenchyme formed a rather continuous pathological aggregate.

This type of vegetal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ) was rather common in certain egg batches. Sometimes the impression gained was that the development of the ectoderm had not lagged behind that of the endomesoderm but obviously there was no aboral pavement epithelium present in this type of larva.

Fig. 15 represents another rather different example of a vegetal half ( $-\text{SO}_4^-$ ). It was elongated in the animal-vegetal direction. The boundary between ecto- and endomesoderm may be at a; the subsequent region a-b should then represent a hind gut with cylindrical epithelial cells. Also the delimitation of the midgut is conjectural; it may extend between b and c. The terminal (most vegetal) region corresponds to oesophagus and coelom rudiment. The main part of the mesenchyme was present as a great rather undifferentiated clump within the midgut. Only vaguely were some cell boundaries distinguishable within the clump. Some twelve cells had, however, detached themselves and

immigrated into the anterior region of the larva. Their surface was somewhat irregular but no real lobo- or filopodia were distin-

guished (by contrast, see Fig. 11 and 12). Some of them had developed into pigment cells. No trace of skeleton was visible, not even in the polarization microscope. The more distal (vegetal) region of the everted endomesoderm presented a number of dissociated cells. The dissociation decreased along a vegetal-animal gradient, as was also the case in the vegetal half represented in Fig. 14.

Only rarely was a pronounced bilateral symmetry found in vegetal halves subjected to sulfate-free sea water. In these an oral (ventral) side was distinguishable by its cylindrical cells, whereas the aboral side was covered by a flat epithelium. On the oral side of the invaginated endomesoderm there was an aggregation of spherical mesenchyme cells, pale in phase contrast. In the opposite (aboral) direction the mesenchyme cells were fewer, darker in phase contrast and evidently capable of a certain movement. They had the characteristic feature of secondary mesenchyme. The same kind of bipolarity as that described was often observed in embryos reared from polyspermic eggs (unpublished observations). Observations of this kind indicate that the

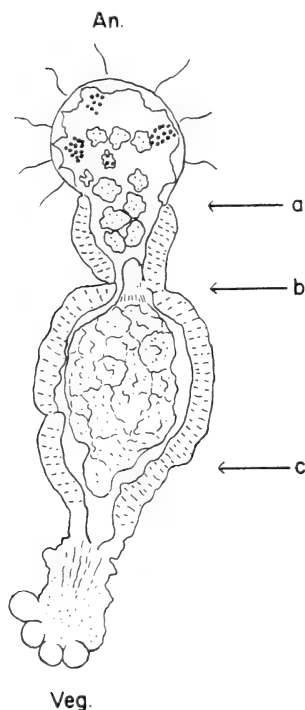


FIG. 15.

Vegetal half separated in the 16-cell stage and reared for ca. 42 hours in sulfate free sea water. An, Veg, animal and vegetal direction; *a*, *b* and *c* boundaries between ectoderm and hindgut, between hind- and midgut, and between midgut and oesophagus region. 680  $\times$ .

aboral pavement epithelium of the ectoderm has the main inductive effect on movements and differentiation of the secondary mesenchyme cells. This would also explain the degenerate state of the mesenchyme in embryos of the type represented in Fig. 13 and 14.

The type of vegetal half ( $-\text{SO}_4^-$ ) represented in Fig. 16 was found in low frequency. In the animal direction a rather large

acron plate consisting of cylindrical cells was visible, whereas the aboral vegetal region was constituted of flat cells. In the interior a rather large endomesoderm was observed. It was subdivided into two compartments, oesophagus and midgut, which were thick-walled and bulging. They were very rich in cells. By striking contrast the hind gut was very small; it was built up of a rather small number of thin flat cells. This disproportion between the two anterior and the hind intestinal compartments may be conceived of as a vegetalization within the endomesodermal region with a tendency of suppressing the most animal compartment, the hindgut. The mesenchyme cells in the animal region were large and disordered. The fewer mesenchyme cells in the aboral region were at least one generation more advanced with respect to cell division. They showed also indications of form changes.

In Table 3, the material of vegetal halves was roughly subdivided into three to four different groups. As follows from this section the subdivision could have been carried further. The purpose of this section was, however, to give some examples of the different types observed and to convey the impression of the great variability of the development of the vegetal halves, particularly when they were reared in sulfate-free sea water.

d) INCORPORATION OF LABELLED AMINO ACIDS INTO WHOLE EMBRYOS, AND INTO ANIMAL AND VEGETAL FRAGMENTS REARED IN NORMAL AND SULFATE-FREE SEA WATER

As described in section I embryos ( $+SO_4^-$ ) and ( $-SO_4^-$ ) of various stages were exposed for 30 minute periods to labelled amino acids (hydrolysate of algal proteins).

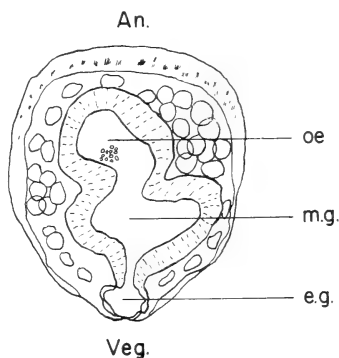


FIG. 16.

Vegetal half separated in the 16-cell stage and reared for ca. 42 hours in sulfate free sea water. An, Veg, animal and vegetal direction, oe oesophagus, m.g. midgut and eg. endgut. 450  $\times$ .

Table 4 brings together a number of single experiments with whole embryos and with animal and vegetal halves. Each one of these categories of embryos was reared in normal ( $+SO_4$ ) and in sulfate-free ( $-SO_4$ ) sea water. Each horizontal line refers to material from one female and one male. Reading of the columns in a vertical direction gives the change of incorporation with advancing development. In this way, material from different animals is compared, which brings in the variation between different batches of eggs as an additional source of error.

TABLE 4.

*Incorporation of  $^{14}C$ -labeled amino acids (algal protein hydrolysate) into embryos of Paracentrotus lividus. The data are based on different experiments labeled 1 a, 1 b, 2 a, 2 b, 3 a, 3 b, 4 a, 4 b, 5 a, 5 b. Experiments with the same number were in the same stage: 1, early mesenchyme blastula, 2, middle mesenchyme blastula, 3, late mesenchyme blastula, 4, gastrula  $\sim 3/4$  invagination, 5, late gastrulae. The experiments a were carried out in 1962, the experiments b in 1963. The figures represent counts per minute per 100 embryos.*

Exp.	Whole embryos		Animal halves		Vegetal halves	
	$+SO_4$	$-SO_4$	$+SO_4$	$-SO_4$	$+SO_4$	$-SO_4$
1 a . . . . .	670	485	310	350	225	230
1 b . . . . .	678	515	465	368	320	305
2 a . . . . .	795	780	580	490	415	400
2 b . . . . .	840	590	690	345	480	410
3 a . . . . .	930	630	490	445	385	380
3 b . . . . .	1140	1050	675	630	420	450
4 a . . . . .	935	645	445	350	250	260
4 b . . . . .	940	708	830	435	358	335
Mean . . . . .	866	682	522	427	357	346
Standard error	$\pm 58.8$	$\pm 64.7$	$\pm 44.3$	$\pm 34.7$	$\pm 32.6$	$\pm 34.6$
Fiducial limits, 5 per cent level	727-1005	529-835	418-627	344-510	280-433	264-428
5 a . . . . .	1175	680	570	520	480	390
5 b . . . . .	1205	708	830	600	460	367
Mean . . . . .	1190	694	700	560	470	379
Standard error	$\pm 15$	$\pm 14$	$\pm 130$	$\pm 40$	$\pm 10$	$\pm 12$
Fiducial limits, 5 per cent level	1154-1226	661-727	392-1008	520-600	460-480	367-391



TABLE 5.

Means of paired differences between values contained in Table 4. The different combinations are given in column 1. The pairing was always made between values from one and the same material i.e. values found on the same horizontal lines in Table 4, Exp. 1 a-4 b. The Exp. 5 a and b have not been included in this table. Some data about differences within Exp. 5 a and b are discussed in text. An, animal half; Veg, vegetal half.

Difference in C.P.M./100 embryos	Mean of difference	Standard error	t	Significance
1) between whole embryos (+ SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ) and (- SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	184	± 34.5	5.3	× ×
2) " 2 × An (+ SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ) and whole embryos (+ SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	177	± 73.0	2.42	×
3) " 2 × An (+ SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ) and whole embryos (- SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	361	± 68.5	5.3	× ×
4) " 2 × An (- SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ) and whole embryos (+ SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	- 102	± 59.7	1.7	0
5) " 2 × An (- SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ) and whole embryos (- SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	176	± 28.4	6.2	× ×
6) " 2 × Veg (+ SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ) and whole embryos (+ SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	- 153	± 20.5	7.5	× ×
7) " 2 × Veg (- SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ) and whole embryos (- SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )		± 41.1	0.31	0
8) " 2 × An (+ SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ) and 2 × An (- SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )	190	± 78.1 (35)	2.43 (3) <sup>1</sup>	×
9) " Veg (+ SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> ) and Veg (- SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )		10.4	1	0

<sup>1</sup> The figures within parenthesis refer to the non doubled values of An (+ SO<sub>4</sub><sup>-</sup>) and An (- SO<sub>4</sub><sup>-</sup>).

In order to facilitate the statistical treatment of the material Exp. 1 a-4 b (Table 4) have been regarded as being one population. This is not strictly correct. MARKMAN's (1961) curve shows that from the youngest stage included in the table (Exp. 1 a and b), the early mesenchyme blastula stage, to the gastrula stage with about <sup>2</sup>/<sub>3</sub> invagination (Exp. 4 a and b) there is an increase in incorporation of labelled amino acid into eggs in sea water. This

follows also from an inspection of the second column of Table 4. Differences in mean values may thus partly be due to differences in rate of increase of the incorporation instead of differences between values belonging to the same level. The outcome of the statistical treatment justifies the procedure adopted. The values referring to embryos with achieved gastrulation (Exp. 5 a and b) have, however, not been included in the pooled material. It is included separately in the lower part of Table 4. The results presented in Table 4 has to be regarded as preliminary; the writers have, however, some supporting material at their disposal and, at the first opportunity, continued measurements will be carried out.

In Table 5, the mean of differences paired in nine combinations have been recorded. The first mean refers, for example, to the differences between whole embryos reared in normal and in sulfate-free sea water (column 2 and 3 of Table 4). The members of one pair belong throughout to the same material. This means that only values recorded on the same horizontal line in Table 4 have been paired.

The  $t$  value is a test of null hypothesis (see SNEDECOR, 1946, p. 66). The deviation from the value zero of the mean of differences was highly significant ( $++$ ), significant ( $+$ ) or not significant ( $0$ ). The incorporation values for the half embryos have been doubled in order to make them directly comparable to the whole larvae. This was not done, however, in the difference between vegetal halves ( $+SO_4^-$ ) and ( $-SO_4^-$ ) where even the difference between the non doubled values proved to be non-significant.

For the embryos that had accomplished gastrulation only two pairs of values were available for each category of embryos (Exp. 5 a and 5 b). Thus they do not lend themselves to statistical treatment. However, it is obvious that the fiducial limits do not overlap in whole embryos  $+SO_4^-$  and whole embryos  $-SO_4^-$  (Table 4, column 2, and 3). This indicates a high significance of the paired differences. The mean of this is considerably higher than in the pooled material of Exp. 1 a-4 b. This does not mean a sudden increase of mean difference in the last stage of the incorporation experiment (Exp. 5 a and b). It depends partly on the non-uniform character of the pooled material of the earlier stages.

A significant difference seemed also to prevail between vegetal halves in Exp. 5 a and b. This could mean that, in isolated

vegetal halves, the amino acid incorporation gradually becomes dependent on  $\text{SO}_4^{=}$ . This does not seem incompatible with the morphogenetic events. This point has to be more carefully tested in future work.

As above the combination 2 x An ( $-\text{SO}_4^-$ ) and whole embryo ( $+\text{SO}_4^-$ ) presented no significant difference. The range of fiducial limits for An ( $+\text{SO}_4^-$ ) is very great in Exp. 5 a and b; the values are therefore useless for testing differences.

### III. DISCUSSION

The uptake of sulfate ions begins to be pronounced approximately 6 hours after fertilization. It increases then but not continuously. There is one peak soon after hatching, another in the second period of gastrulation (IMMERS, 1961 a). Histochemical work indicated that sulfate combines with polysaccharides. As a consequence, sulfated polysaccharides arise within the embryo and larva (IMMERS, 1961 b, 1962). These are strongly linked to proteins. Work in progress has shown that proteins must be removed by enzymic digestion in order to release the sulfated polysaccharides in homogenates of eggs.

The main amount of sulfate taken up by the embryo probably becomes linked to polysaccharides. Most convincing in this regard is the experience that the acid polysaccharides of the hyaline layer do not appear in embryos reared in sulfate free sea water (IMMERS, 1956). Other sulfated substances may be present in low concentrations, among those intermediate donors of sulfate to the polysaccharides.

It is unknown whether the polysaccharide molecule is built up prior to the formation of linkages with sulfate or whether this latter process is taking place by steps during the synthesis of the polysaccharide molecule. Even in the first case the non-sulfated polysaccharide will have physical-chemical properties widely different from those of polysaccharide sulfate. A macromolecule of the former type will not fit into the cytoplasmic organization; consequently, disturbances may arise. More work is needed to substantiate this view. In the following the conception will nevertheless be maintained that, in last instance, lack of sulfate

prevents the formation of certain polysaccharide sulfate protein compounds. A role of sulfate as a precursor to sulfur-containing amino acids can be excluded. Like the chick embryo (LASH, 1963), the sea urchin embryo seems to lack the enzymes necessary for sulfate reduction.

The most conspicuous effect of lack of sulfate on whole larvae is an animalization to variable extent. Evidently both immigration of mesenchyme cells and invagination of the archenteron are inhibited in the vegetal region. This is in keeping with the conclusions drawn by IMMERS (1961 b, 1962) concerning the role of polysaccharide sulfate (PS) in the formation of pseudo- or filopodia in mesenchyme cells and the particular importance of sulfate in the second period of gastrulation (IMMERS, 1961 a). According to the results on whole larvae the vegetal region is more sensitive to lack of sulfate than is the animal one. The animal region exerts a continuous induction pressure to which the vegetal region yields in absence of PS. The PS seem thus to exert a stabilizing action on the vegetal differentiation.

In the animal region itself a displacement of boundaries occurs; the most obvious one is the displacement of the boundary between acron region and the region with motile cilia. Also within this latter, different regions may be distinguished; the most characteristic is the region to which the primary mesenchyme cells attach themselves. They are here induced to form the two bilaterally arranged groups united by an oral and an apical chain of cells. The extension of the acron brings about a change also in the region of ectoderm with motile cilia. This is no longer able to induce the bilateral arrangement of the primary mesenchyme cells. These and the resulting skeleton pieces become radially arranged (see Fig. 6). It is remarkable that an extension of the acron is possible even in embryos with such well developed archenterons as those represented in Figs. 3-5. HÖRSTADIUS (1935) has shown that even the cell layer  $veg_1$  (separated at the transition to 64 cell stages) is able to arrest the extension of the acron and ciliary tuft (l.c. p. 323-4). The whole embryos of Figs. 3-5 contain more vegetal material (also  $veg_2$ +micromeres). The disturbance of balance manifested in the acron extension may be due to an impairment of the vegetal "moderator" that normally limits the extension of the acron region.

The treatment of animal and vegetal halves with sulfate-free sea water had the effect of animalizing the former while vegetalizing the latter (Tables 1-3). In view of the results obtained with whole eggs an animalization of the animal halves should be expected. In the animal halves ( $+SO_4^-$ ) there is sufficient synthetic activity along vegetal pathways that the extension of the ciliary tuft is blocked to some extent. If lack of sulfate causes a further inhibition of the vegetal pathways in the animal halves the animalization caused by the separation from the vegetal region will be enhanced (see RUNNSTRÖM, 1961 b).

The enhancement of vegetalization of the vegetal halves ( $-SO_4^-$ ) is probably due to several convergent factors. The number of exogastrulae was considerably higher in these vegetal halves than in those reared in normal sea water. This may indicate a decrease of the volume of the ectoderm but also an impaired activity of mesenchyme cells. After an initial autonomous phase of gastrulation there is a second phase in which pseudopodia are emitted from the tip of the archenteron. These pseudopodia fixing themselves at the ectoderm contribute to the invagination during the second phase of gastrulation (GUSTAFSON and KINANDER, 1956). As shown above, lack of sulfate practically abolished the capacity of the mesenchyme cells for forming pseudopodia in vegetal halves (as also to a large extent in whole embryos and larvae). The contact with the ectoderm is thus not established or at least not to the same extent as in the vegetal halves ( $+SO_4^-$ ). The migration of mesenchyme cells into the ectodermal region of these latter was described above; it was evident that the mesenchyme cells are not only attracted by the ectoderm but also differentiate under the inductive influence of the ectoderm, an effect probably mediated by a secretion from the ectoderm (perhaps mainly from the aboral ectoderm). The similar conditions in *Li* treated larvae were referred to above (section II c). RUNNSTRÖM (1933, 1957) described further how ectodermic patches may arise within the evaginated endoderm of *Li* larvae. These patches attract primary and secondary mesenchyme cells and induce skeleton formation by the former.

The intimate relations between ectoderm and mesenchyme are abolished by lack of sulfate; in particular this is pronounced in vegetal halves.

As described above, lack of sulfate may cause a dissociation of the endomesoderm cells, a change progressing from the most vegetal region in animal direction. MARKMAN (1963) brought vegetal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ) into  $4 \times 10^{-4}\text{M}$  uridine. The exposure to this began 4 hours after insemination. Addition of uridine prevented fully the cell dissociation and conferred a more healthy appearance on the cells. On the other hand, the uridine treatment did not change the proportion of exogastrulae among the vegetal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ). It was superior to the number of exogastrulae in vegetal halves ( $+\text{SO}_4^-$ ) (MARKMAN, personal communication).

The number of exogastrulae was not only augmented in vegetal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ) but these tended also to be more vegetalized than in vegetal halves ( $+\text{SO}_4^-$ ). HÖRSTADIUS (1935), LINDAHL (1936) and v. UBISCH (1950) emphasized that a tendency to pluteus organization could become prevalent in vegetal halves only after readjustments of the opposite gradient systems. In the language adopted by RUNNSTRÖM (1961 b), the animal synthetic pathways have to be reinforced, whereas the vegetal synthetic pathways have to be moderated. As evident from Table 3 the tendency to pluteus organization was almost completely suppressed in vegetal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ). This means, in general terms, that the readjustments of the gradient systems is strongly inhibited in the vegetal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ). This may depend on several factors; one very important is transportation that, in vegetal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ), may be inhibited by the described behavior of the mesenchyme which, normally, is an important mediator of exchange processes within the embryo or larva. The cell movements are another factor to be considered. An accumulation and increased adhesion of the cells of the most animal region and a differentiation of the pavement epithelium of aboral region seem to be prerequisite for attainment of a fuller regulation in vegetal halves. When the action of these and probably other factors is reduced, as in the vegetal half ( $-\text{SO}_4^-$ ), the original conditions are maintained. Consequently, the prevalence of the vegetal trend of differentiation will remain.

The data concerning the incorporation of amino acids (Table 4, Exp. 1a-4b and 5) have been condensed in a simplified manner in Fig. 17 where the different kinds of embryos are arranged on three different levels. The values for the halves have, as in Table 5, been multiplied by two in order to make them directly comparable

with the whole embryos. The highest level of incorporation,  $\sim 1000$  c.p.m./100 embryos, was found in the animal halves ( $+\text{SO}_4^-$ ); the next level,  $\sim 850$  c.p.m./100 embryos, was found in whole embryos ( $+\text{SO}_4^-$ ) and  $2 \times \text{An}$  ( $-\text{SO}_4^-$ ); the lowest level,  $\sim 700$  c.p.m., is represented by Veg ( $+\text{SO}_4^-$ ), whole embryos ( $-\text{SO}_4^-$ ) and Veg ( $-\text{SO}_4^-$ ). It may be allowed to consider the

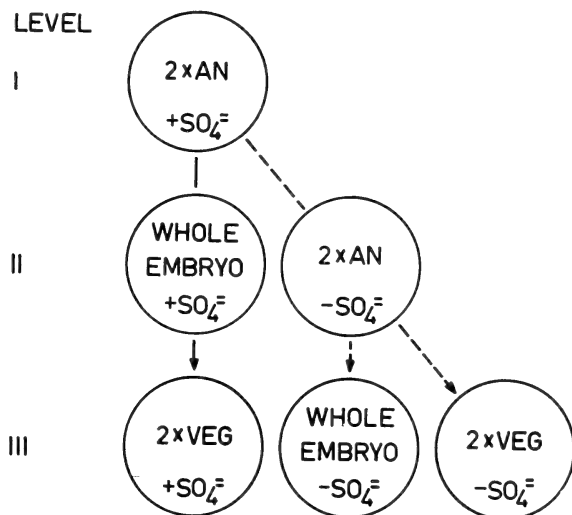


FIG. 17.

A diagram representing the different levels of incorporation of amino acids in different categories of embryos. Level I corresponds to ca. 1000, level II to ca. 850 and level III to ca. 700 c.p.m./100 embryos. Based on the data of Table 4 and 5.

incorporation data as a measure of the protein synthesis. It is then obvious that in animal halves and in whole embryos lack of sulfate brings about a decrease in protein synthesis, whereas there is no difference between the vegetal halves ( $+\text{SO}_4^-$ ) and ( $-\text{SO}_4^-$ ). As indicated previously in this section the sulfated polysaccharides are bound to proteins. An acceptable explanation of the difference, e.g. between whole embryo ( $+\text{SO}_4^-$ ) and whole embryo ( $-\text{SO}_4^-$ ), would be that the proteins (called here  $\text{Pr}^1$ ) normally bound to the polysaccharide sulfate (PS) are not formed in the latter embryos. The situation would be the same as in chondrogenic cells where

according to CAMPO and DZIEWIATKOWSKY (1962) the PS moities of the polysaccharide sulfate protein compounds (PSPr), and the protein component,  $\text{Pr}^1$ , are synthesized simultaneously (cf. also DORFMAN and SCHILLER, 1962).

The increase in incorporation of amino acids in animal halves ( $+\text{SO}_4^-$ ) above the level prevalent in whole embryos ( $+\text{SO}_4^-$ ) was earlier found by MARKMAN (1961). The diagram, Fig. 17, shows that the level of incorporation in animal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ) is lowered by one step but is still one step above the level in whole embryos ( $-\text{SO}_4^-$ ). This tends to show that the increase in protein synthesis in the animal halves is due to partial release from a moderating agent produced in the vegetal region of the embryo (RUNNSTRÖM, 1957) and not directly related to PSPr<sup>1</sup>.

It may be a mere coincidence that the vegetal agent decreases the incorporation of amino acids approximately to the same extent as does lack of sulfate. When, in whole embryos ( $-\text{SO}_4^-$ ), the effect of the vegetal agent and of lack of sulfate are combined the incorporation is at its lowest level.

The vegetal halves are also found at this low level. As already pointed out, no difference prevailed between Veg ( $+\text{SO}_4^-$ ) and Veg ( $-\text{SO}_4^-$ ), at least not in the stages concerned. MARKMAN (1961) described earlier the low rather constant incorporation of both  $^{14}\text{C}$ -adenine and  $^{14}\text{C}$ -leucine in the vegetal halves in stages ranging from early cleavage to gastrula. RUNNSTRÖM (1961 a) presented the view that from about the stage of late mesenchyme blastula or early gastrula stage the vegetal region is supplemented from the animal region with some agent that the endomesoderm and mesenchyme are unable to build up. The scheme, Fig. 17, suggests that the supplementing agent directly or indirectly has to do with the protein synthesis. One attractive possibility is that the supplementation may primarily concern agents necessary for the binding of sulfate to polysaccharide. In the absence of these agents no sulfated polysaccharides would be synthesized and consequently the proteins  $\text{Pr}^1$  would fail to appear.

In vegetal halves ( $+\text{SO}_4^-$ ) a certain amount of PSPr<sup>1</sup> may gradually be built up by a regulation leading to the differentiation of a functioning ectoderm. This regulation does not occur in the vegetal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ). The possibility of a regulation of the amino acid incorporation is to some extent supported by data of



Table 4, Exp. 5 a and b (cf. comments in section II d, last paragraph but one).

According to the suggestion made the lack of sulfate should specifically eliminate certain proteins  $\text{Pr}^1$ . The relative high incorporation of amino acids prevailing even at level III favours the view that the decrease in incorporation is a specific and not a general one.

The vegetal halves ( $+\text{SO}_4^-$ ) cannot incorporate more than do the vegetal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ) because of their isolation from the animal region. In the vegetal halves ( $+\text{SO}_4^-$ ) the low incorporation is due to lack of supplementing agents. In the whole larvae ( $-\text{SO}_4^-$ ) the incorporation is at the same level but in this case the reduced incorporation depends on lack of sulfate.

Substances of the type  $\text{PSPr}^1$ , heparin, chondroitin sulfate etc. have been shown to be inhibitors of blood clotting (cf. for references JORPES, 1946; GIBIAN, 1954). The jelly coat of the sea urchin egg (a  $\text{PSPr}^1$  compound) was shown to inhibit blood clotting (IMMERS and VASSEUR, 1949). This substance was also shown to delay or inhibit the fertilization or the elevation of the fertilization membrane in sea urchin eggs (RUNNSTRÖM and WICKLUND, 1950; HARDING, 1951). In blood clotting, these substances inhibit the activation and the activity of the proteolytic enzyme thrombin. The  $\text{PSPr}^1$  compounds also act, however, on other proteolytic enzymes like cathepsin, trypsin and pepsin. LUNDBLAD (1954) showed that heparin inactivates the proteolytic enzyme E II in sea urchin eggs. LUNDBLAD and RUNNSTRÖM (1962) considered that E II is the enzyme causing cytoplasmic gelation. A number of non proteolytic enzymes are also inhibited, among those ribonuclease (cf. GIBIAN, 1959, Table p. 83).

An important consequence of absence of  $\text{PSPr}^1$  may thus be an increased release or activation of hydrolytic, particularly proteolytic enzymes. The morphogenetic effect of lack of sulfate resembles in several respects that obtained by pretreatment of the eggs with low trypsin doses (RUNNSTRÖM, 1961 c and 1962). This pretreatment brings about the activation of a gelating enzyme. Lack of sulfate may likewise cause activation or release of enzymes that cause slight changes in the structure of proteins that are products of vegetal synthetic pathways (RUNNSTRÖM, 1961 b). Owing to these changes they lose some property necessary for their inter-

action in the embryo. In this way the vegetal region becomes less protected, certain of its molecular groups losing their capacity of producing the moderator of animal pathways. Results reported in section IIa prove definitely that this must be the first change that occurs as a consequence of lack of sulfate. In the larvae represented in Figs. 2, 3, 4 and 7, the endomesoderm has its normal extent but, nevertheless, an extension of the acron beyond its normal area (cf. Fig. 1) has occurred. Moreover this extension has disturbed the balance within the ectoderm as evidenced by the lacking capacity of the posterior region of the ectoderm to induce a bilaterally symmetric arrangement of the primary mesenchyme cells. Also groups of "vegetal" components that are present in the animal half are attacked by the activated and released enzymes. The effect of this is visualized, for example, by the increased degree of animalization in the animal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ).

This gives evidence of a basic assumption involved in the double gradient concept. Products of vegetal pathways—primarily proteins or products of their activity or transformation—are present also in the animal half of the embryo in concentrations decreasing in animal direction. The conditions of stability of these vegetal products seem to be the same as when they are present in the vegetal region of the embryo. This points to the conclusion that at a certain level a mixture of products of animal (an) and vegetal pathways (veg) are present side by side. In early development the an/veg quotient may be decisive for the differentiation at the different levels in the embryo, as was postulated by RUNNSTRÖM (1957 and 1961 a). From a certain stage—probably corresponding to the mesenchyme blastula stage—the situation becomes more complicated by secondary interactions. One of these is visualized by the necessity for a factor from the animal region to facilitate the growth and differentiation of the vegetal region.

The protein molecules which are products of the animal synthetic pathways must be more resistant to hydrolytic enzymes than are the protein molecules built up through vegetal pathways. This striking difference in resistance is found also after pretreatment of the eggs with low doses of trypsin (RUNNSTRÖM, 1961 c, 1962).

The increased tendency to hydrolytic processes in the embryos reared without sulfate may not essentially influence the amino

acid incorporation. On the other hand they may, e.g. by causing gelation, inhibit the morphogenetic movements, diffusion processes, etc., as discussed above.

An unpublished experiment (carried out with kind assistance of Dr. T. Hultin) showed that the gelation caused by pretreatment of the eggs with low trypsin doses did not inhibit the strong rise in incorporation of amino acids that occurs on fertilization (cf. HULTIN, 1961). It is admitted that a prolonged lack of sulfate will cause damage that may have a more unspecific effect on protein synthesis. A release of nucleases occurs also as a consequence of treatment with sulfate-free sea water but this phenomenon will be described and discussed elsewhere.

According to LINDAHL (1936) whole embryos reared in sulfate free sea water showed no change in respiration until the late blastula stage (about 12 hours after fertilization). In the next four hours these embryos showed a respiration that was at the most 10-15 per cent lower than in the control embryos. It is essentially a slowing down of the increase in respiration that occurs during this period (l.c. Fig. 106, p. 324). This decrease may correspond to a decreased drain on ATP (cf. IMMERS and RUNNSTRÖM, 1960) as a consequence of the decrease in protein synthesis occurring in sulfate-free sea water. Thus the figures of LINDAHL do not prove that a delay in the *formation* of the respiratory enzymes occurs. The slight decrease may rather be due to an increased control of respiration. The results obtained by LINDAHL thus rather support the view that lack of sulfate has not primarily a general inhibitory effect of protein synthesis but merely inhibits the synthesis of a special fraction of embryonic proteins.

## SUMMARY

An attempt has been made to analyze the role of sulfate ions in the developing sea urchin embryo. Sulfate is stored mainly in bound form within the egg but an uptake of sulfate ions from the sea water begins to be pronounced approximately 6 hours after fertilization. With respect to whole larvae the study confirmed that a radialization or animalization of the larvae takes place when they

are reared in sulfate-free sea water. The first effect of lack of sulfate is a weakening of the vegetal factor (moderator) that prevents the extension of the acron region beyond its normal area. Animal halves separated in the 16-32 cell stage became more strongly animalized in sulfate-free than in sulfate-containing sea water (cf. Tables 1 and 2); the vegetal halves, on the other hand, became more vegetalized in sulfate-free than in sulfate-containing sea water (cf. Table 3).

The incorporation of  $^{14}\text{C}$ -labelled amino acids (hydrolysate of algal proteins) into the different categories of embryos was tested, beginning with the early mesenchyme blastula and ending with a late gastrula stage. The original values are given in Table 4. The first four of the five stages tested were treated as a uniform material and the differences caused by different treatments were examined statistically (cf. Table 5). The results are represented in a simplified way in Fig. 17. Three different levels of incorporation of amino acids were distinguished. Two main factors seem to be at work: 1) the moderator built up in the vegetal region of the embryo and spreading from there, and 2) sulfated polysaccharides (PS) that increase the incorporation because they influence the protein synthesis in the direction of certain proteins  $\text{Pr}^1$ , which combine with polysaccharide sulfate to form  $\text{PSPr}^1$ . It is contended that some link necessary for building up PS originates in the animal embryonic region and spreads from there. Thus early isolation of a vegetal half should leave this with a low content of PS. The amino acid incorporation is in fact—at least until an advanced gastrula stage—equal in vegetal halves reared in sulfate-free or sulfate-containing sea water. Later a regulation may possibly occur in the former. The stronger vegetalization in vegetal halves in sulfate-free medium, Veg ( $-\text{SO}_4^-$ ), is accounted for by the decrease in motility of the cells necessary in regulation processes. The mesenchyme cells that play a role in gastrulation and in connecting the different germ layers are mostly not motile and tend to aggregate with consequences for transportation and interactions. The morphogenetic difference between Veg ( $-\text{SO}_4^-$ ) and Veg ( $+\text{SO}_4^-$ ) is thus due to the lower capacity of regulation in the former. This leaves the vegetal halves ( $-\text{SO}_4^-$ ) mostly in a state of animal-vegetal unbalance similar to that prevailing immediately after the operation. Conversely, the vegetal halves ( $+\text{SO}_4^-$ )

are capable of a regulation which may bring about a tendency to normal animal-vegetal balance (cf. Table 3).

The basic role of PSP<sup>r1</sup> is a protection of structure particularly in the vegetal region of the embryo. The protection may be based on the well known property of compounds of this type (e.g. heparin, chondroitin sulfate) to inhibit activation or activity of proteolytic and other hydrolytic enzymes.

When sulfate is lacking these enzymes may be relaxed and cause structural changes e.g. gelation of the cytoplasm. Moderate changes of this kind may not influence amino acid incorporation but cause pronounced changes in morphogenesis as evidenced by a comparison of vegetal halves ( $+SO_4^{2-}$ ) and ( $-SO_4^{2-}$ ).

The animalization of whole larvae and of animal halves in sulfate-free medium is explained as being due to a high sensitivity of certain vegetal proteins to the activated or released enzymes whereas the "animal" proteins are resistant to the attack of these enzymes.

#### ACKNOWLEDGEMENT

The experimental part of this work was carried out in the spring seasons 1961-63 at the Stazione Zoologica, Naples. We are very much obliged to the Director, Dr. Peter Dohrn, and to the staff of the Stazione for effective support and help in our work. We are grateful to Mrs. G. Hörstadius and Mrs. A. Runnström for skilful technical assistance. Financial help which is gratefully acknowledged was received from the Swedish Natural Sciences Research Council and from the Swedish Cancer Society.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Aus Seewasser aufgenommenes Sulfat wird von Seeigelembryonen hauptsächlich an Polysaccharide gebunden. Ein Mangel an sulfathaltigen Polysacchariden äussert sich morphogenetisch — im Vergleich zu in normalem Seewasser gezüchteten Hälften — in der weiteren Animalisierung von isolierten animalen bzw. in der Vegetativisierung isolierter vegetativer Hälften.

Die verminderte Aufnahme von  $^{14}C$ -markierten Aminosäuren beruht wahrscheinlich auf dem Verlust von Proteinen, die normalerweise mit sulfathaltigen Polysacchariden konjugiert sind.

## RÉSUMÉ

Les embryons d'oursin fixent à des polysaccharides les sulfates qu'ils absorbent de l'eau de mer. Comparées à des moitiés d'embryon isolées dans de l'eau de mer normale, les moitiés animales sont animalisées et les moitiés végétatives végétativisées par un manque de polysaccharides sulfatés.

L'incorporation réduite d'acides aminés marqués au  $C^{14}$  est probablement due à un déficit en protéines normalement conjuguées aux polysaccharides sulfatés.

## REFERENCES

- BÄCKSTRÖM, S. 1953. *Studies on the animalizing action of o-iodosobenzoic acid in the sea urchin development*. Arkiv Zool. (2) 4: 485.
- CAMPO, R. D. and DZIEWIATKOWSKI, D. D. 1962. *Intercellular Synthesis of Protein-polysaccharides by Slices of Bovine Costal Cartilage*. J. Biol Chem. 237: 2729-2735.
- DORFMAN, A. and SCHILLER, S. 1961. *Mucopolysaccharides of Connective Tissue*, in: *Biological Structure and Function* (Ed. Goodwin, T. W. and Lindberg, O.), 1: 327-343.
- GIBIAN, H. 1959. *Einzeldarstellungen aus dem Gesamtgebiet der Biochemie. Mucopolysaccharide und Mucopolysaccharidasen*. Franz Deuticke, Wien.
- GUSTAFSON, T. and KINANDER, H. 1956. *Gastrulation in the sea urchin larva studied by aid of time-lapse cinematography*. Exptl. Cell Research 10: 733-734.
- HARDING, C. V. 1951. *The action of certain polysaccharides on fertilization in the sea urchin egg*. Exptl. Cell Research 2: 403-445.
- HERBST, C. 1904. *Über die zur Entwicklung der Seeigellarven notwendigen anorganischen Stoffe, ihre Rolle und Vertretbarkeit*. Arch. Entw. Mech. Organ 17: 306-520.
- HULTIN, T. 1961. *Activation of ribosomes in sea urchin eggs in response to fertilization*. Exptl. Cell Research 25: 405-417.
- HÖRSTADIUS, S. 1935. *Über die Determination im Verlaufe der Eiachse bei Seeigeln*. Pubbl. Staz. Zool. Napoli 14: 251-429.
1949. *Exp. researches on the developmental physiology of the sea urchin*. Pubbl. Staz. Zool. Napoli 21: Suppl. 131-172.
1950. *Free hand manipulations*. In McClung's Handbook of microscopical Technique, 3 Ed. (ed. R. McClung Jones) Hoeber, p. 555-563.

- IMMERS, J. 1956. *Cytological features of the development of the eggs of Paracentrotus lividus reared in artificial sea water devoid of sulfate ions*. Exptl. Cell Research 10: 546-548.
- 1961a. *Incorporation of  $^{35}\text{SO}_4$  in the sea urchin egg and larva*. Arkiv Zool. (2) 13: 561-564.
- 1961b. *Comparative study of the localization of incorporated  $^{14}\text{C}$ -labeled amino acids and  $^{35}\text{SO}_4$  in the sea urchin ovary, egg and embryo*. Exptl. Cell Research 24: 356-378.
- 1962. *Investigations on macromolecular sulfated polysaccharides in sea urchin development*. Almquist and Wicksell, Uppsala.
- and RUNNSTRÖM, J. 1960. *Release of respiratory control by 2, 4-dinitrophenol in different stages of sea urchin development*. Developmental Biology 2, 90-104.
- and VASSEUR, E. 1949. *Comparative studies on the coagulation process with heparin and sea urchin fertilizin*. Experientia 5: 124.
- JORPES, E. 1946. *Heparin in the treatment of thrombosis. An account of its chemistry. Physiology and Application in Medicine*. 2nd. Ed. Oxford Univ. Press, London.
- LASH, J. W. 1963. *Tissue interaction and specific metabolic responses: chondrogenic induction and differentiation*. Symp. Soc. Develop. and Growth (Ed. M. Lock) 21: 235-260.
- LINDAHL, P. E. 1933. *Über "animalisierte" und "vegetativisierte" Seeigellarven*. Roux' Arch. Ent. Mech. Organ. 128.
- 1936. *Zur Kenntnis der physiologischen Grundlagen der Determination im Seeigel Keim*. Acta Zool. 17:179-365.
- 1941. *Physiologische Probleme der Entwicklung und Formbildung des Seeigelkeimes*. Die Naturwiss. 29: 673-685.
- und STORDAL, Å. 1937. *Zur Kenntnis des vegetativen Stoffwechsels im Seeigelei*. Roux' Arch. Entw. Mech. Organ. 136: 44-63.
- LUNDBLAD, G. 1954. *Proteolytic activity in sea urchin gametes*. IV. Arkiv Kemi 7: 127-157.
- and RUNNSTRÖM, J. 1962. *Distribution of proteolytic enzymes in protein fractions from non-fertilized and fertilized eggs of the sea urchin Paracentrotus lividus*. Exptl. Cell 27: 328-331.
- MARKMAN, B. 1961. *Differences in isotopic labelling of nucleic acid and protein in sea urchin embryos developing from animal and vegetal halves*. Exptl. Cell Research 25: 224.
- 1963. *Morphogenetic effects of some nucleotide metabolites and antibiotics on early sea urchin development*. Arkiv Zool. (2) 16, 207-217.
- RUNNSTRÖM, J. 1928a. *Die Veränderungen der Plasmakolloide bei der Entwicklungserregung des Seeigeleies*. Protoplasma 4: 388-513.

- RUNNSTRÖM, J. 1928b. *Plasmabau und Determination bei dem Ei von Paracentrotus lividus*. Roux' Arch. Entw. Mech. Organ. 117.
- 1933. *Kurze Mitteilung zur Physiologie der Determination des Seeigelkeims*. Roux' Arch. Entw. Mech. Organ. 129: 442-444.
- 1957. *Cellular structure and behavior under the influence of animal and vegetal factors in sea urchin development*. Arkiv Zool. (2) 10: 523-537.
- 1961a. *The role of nuclear metabolism in the determination of the sea urchin egg*. Pathologie-Biologie 9: 781-785.
- 1961b. *Remarks on control of structure and Differentiation in Cells and Cell systems*. In Biol. Structure and Function Proceed. I, IUB/IUBS Symp. (Ed. by T. W. Goodwin and O. Lindberg) 2: 465-474, Acad. Press.
- 1961c. *Effect of pretreatment of the sea urchin with trypsin of different doses with respect to cortical changes, cleavage and further development*. Exptl. Cell Research 22: 576-608.
- 1962. *Differential effects of pretreatment of sea urchin eggs with low doses of trypsin*. Zool. Bidrag från Uppsala 35: 385-395.
- and WICKLUND, E. 1950. *Formation mechanism of the fertilization membrane in the sea urchin egg. Inhibitory effect of heparin and jelly substance on dotting of the vitelline membrane*. Arkiv Zool. (2) 1: 179-194.
- SNEDECOR, G. W. 1946. *Statistical methods*. 4th Edition. The Iowa State College Press.
- SWEDMARK, B. 1954. *Sulphate uptake in the sea urchin embryo, studied by an autoradiographic method*. Arkiv. Zool. (2) 537-539.
- V. UBISCH, L. 1950. *Utviklingsfysiologi*. Grieg, Bergen, 1-82.



# Nouvelles observations sur les hybrides létaux entre Batraciens et entre Echinodermes

par

**J. BRACHET**

Laboratoire de Morphologie animale,  
Université libre de Bruxelles, Belgique

*Au Professeur Fritz Baltzer,  
en hommage de respectueuse et  
affectueuse admiration.*

## I. INTRODUCTION

C'est à Fritz BALTZER et à son école qu'on doit d'avoir attiré l'attention sur l'intérêt des hybrides létaux, tant chez les Batraciens que les Echinodermes: il est, en effet, surprenant que l'introduction d'un noyau étranger dans un œuf suffise à provoquer l'arrêt du développement à un stade aussi précoce que la fin de la segmentation ou le début de la gastrulation, dans de nombreuses combinaisons hybrides (BALTZER, 1940). Il est plus surprenant encore que la transplantation, dans un hôte normal, d'un fragment d'un embryon létaux provoque sa « revitalisation » (HADORN, 1932). Les raisons du blocage du développement, chez les hybrides létaux, et de sa reprise, après transplantation dans un hôte normal, même d'espèce étrangère, restent inconnues malgré de nombreux efforts.

Nous avons, surtout, porté nos efforts sur les hybrides entre Batraciens (BRACHET, 1944, 1954; BRACHET, BIELIAVSKY et TENCER, 1962) que nous avons essayé d'étudier sur le plan biochimique; un effort parallèle a été effectué par BALTZER et ses élèves (BALTZER, CHEN et TARDENT, 1961; CHEN, BALTZER et ZELLER, 1960) dans le cas des hybrides entre oursins.

Il serait impossible, dans le cadre de ce travail, de présenter tous les faits qui ont été acquis dans ce domaine: nous nous contenterons donc d'en rappeler l'essentiel (pour plus de détails, voir BRACHET, 1961).

Qu'il s'agisse d'Echinodermes ou de Batraciens, la production d'énergie est anormale dans les hybrides létaux: la consommation d'oxygène, lors du blocage du développement, devient manifestement inférieure à la normale. Chez les Batraciens, on sait que c'est surtout le métabolisme glucidique qui est défaillant (voir la revue de GREGG, 1957): la glycogénolyse et la glycolyse sont fortement inférieures à la normale; les hybrides n'ont qu'une capacité diminuée de maintenir l'acide adénosinetriphosphorique (ATP) sous sa forme phosphorylée, riche en énergie. Récemment, COHEN (1962) a montré que les hybrides létaux entre grenouilles contiennent des quantités anormalement élevées de malonate, qui pourrait inhiber les oxydations cellulaires en bloquant la déshydrogénase succinique.

D'autres anomalies portent sur la synthèse des acides nucléiques; de nouveau, les hybrides entre Echinodermes et entre Batraciens présentent de grandes similitudes. La synthèse de l'acide désoxyribonucléique (DNA) présente, dans les deux cas, une évolution identique à celle de la consommation d'oxygène: de type maternel au début, elle se ralentit à mesure que le blocage du développement se prolonge. Il est clair, cependant, que le blocage du développement ne peut être expliqué par l'arrêt de la synthèse du DNA; celle-ci, de même que l'activité mitotique, se poursuit après que le blocage s'est établi. La situation est plus complexe en ce qui concerne les acides ribonucléiques (RNA): comme nous avons pu le montrer (BRACHET, 1954) et comme l'a confirmé ZELLER (1956), l'hybridation a pour conséquence de produire une mosaïque de noyaux inégalement riches en RNA, tant chez les Anoures que les Urodèles. Tout récemment, nous avons retrouvé cette mosaïque de noyaux inégalement colo-

rables au vert de méthyle (DNA) et à la pyronine (RNA) dans les hybrides létaux *Paracentrotus* ♀ × *Arbacia* ♂ (FICQ et BRACHET, 1963).

Nous avons essayé d'analyser ces altérations de la synthèse des acides nucléiques par la méthode autoradiographique. Les expériences ont montré que les deux types d'acides nucléiques sont anormaux chez l'hybride *Paracentrotus* ♀ × *Arbacia* ♂: le DNA présente, lors du blocage du développement, une labilité excessive, lorsqu'on reporte des embryons marqués à la thymidine tritiée dans un milieu « froid ». En outre, on trouve parfois du DNA marqué dans le cytoplasme: il s'agit, sans doute, d'une élimination discrète de chromatine. Quant au RNA qui se synthétise à partir d'uridine, il est accumulé dans les noyaux; mais il ne migre pas vers le cytoplasme, lors du report dans le milieu « froid », comme cela se produit chez les témoins: le RNA, chez les hybrides, semble donc être immobilisé dans les noyaux, comme s'il y était pris au piège (FICQ et BRACHET, 1963).

Dans le cas de l'hybride *Rana esculenta* ♀ × *Rana temporaria* ♂, l'incorporation de thymidine et d'uridine se poursuit dans le DNA après le blocage du développement. Mais elle diminue progressivement d'intensité à mesure que ce blocage se prolonge. C'est surtout l'incorporation d'uridine qui est touchée: diminuée dans le RNA, elle devient très faible dans le DNA. Il semble donc que l'hybride létaux soit incapable de transformer l'uridine en thymidine, soit que la réduction du ribose y soit devenue impossible, soit que la méthylation de l'uracile ne puisse plus s'y faire (BRACHET, BIELIAVSKY et TENCER, 1962).

Il est bien établi que la réduction du ribose en désoxyribose exige, comme agent réducteur, la forme réduite du triphosphopyridinenucléotide (TPNH). Puisque le métabolisme glucidique des embryons de Batraciens est anormalement bas, on pourrait imaginer l'existence d'un lien entre les deux phénomènes: une production insuffisante de TPNH, chez les hybrides, aurait pour conséquence que l'uridine — dont le ribose ne pourrait plus être réduit — ne serait plus utilisable pour la synthèse du DNA. Des expériences destinées à éprouver cette hypothèse ont consisté à ajouter diverses substances (surtout des intermédiaires du cycle tricarboxylique) aux embryons bloqués et à examiner cytochimiquement (par la coloration de Unna) la proportion de noyaux riches en DNA et en

RNA. Ces expériences ont montré que le citrate et l'oxaloacétate diminuent la proportion des noyaux riches en RNA, alors que le succinate et l'ATP l'augmentent (BRACHET, BIELIAVSKY et TENCER, 1962). Or le citrate est, dans le cycle tricarboxylique, générateur de TPNH.

Le but du présent travail est d'apporter quelques compléments à ces questions: nous examinerons d'abord les effets de diverses substances (notamment ceux de divers nucléosides et nucléotides) sur le développement et sur l'aspect cytochimique des noyaux chez les hybrides traités. Ceux-ci appartiennent à deux combinaisons létales: *Paracentrotus* ♀ × *Arbacia* ♂ et *Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂. Cette dernière ne semble pas avoir été étudiée jusqu'à présent. Nous examinerons ensuite, dans le cas de cette combinaison entre crapaud et grenouille, les résultats de quelques expériences d'autoradiographie et ceux de « pulse experiments » au  $^{32}\text{P}$ , destinés à établir la composition en bases du RNA néosynthétisé.

## II. MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Les oursins, *Paracentrotus lividus* et *Arbacia lixula*, nous ont été, très aimablement, envoyés de Villefranche-sur-Mer à Bruxelles en avion par le Dr R. Lallier, auquel vont nos plus sincères remerciements. L'hybridation a été réalisée selon la méthode décrite par BALTZER et BERNHARD (1955) et BALTZER, CHEN et TARDENT (1961).

En ce qui concerne les hybrides entre Batraciens, le croisement *Bufo vulgaris* ♀ × *Rana temporaria* ♂ a été effectué selon la technique indiquée précédemment (BRACHET, 1954).

Nous donnerons un peu plus de détails au sujet de la combinaison hybride *Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂, parce qu'elle présente de réels avantages pour le travail biochimique. Les individus de *Bufo arenarum* nous sont parvenus d'Argentine, grâce à l'obligeance du Dr E. Mariano qui travaille actuellement dans notre laboratoire. L'ovulation s'obtient aisément par l'injection, par voie intrapéritonéale, du broyat d'une hypophyse de *Bufo arenarum*. En général, la femelle injectée pond moins de 24 heures après l'injection. Les pontes sont extrêmement abon-

dantes (environ 10.000 œufs) et la fécondation artificielle par du sperme homologue ou hétérologue (*Rana temporaria*) n'offre pas de difficultés spéciales: le sperme est dilué dans du liquide de Holtfreter et laissé pendant 20-30 min. au contact des œufs. Il semble qu'il ne soit pas souhaitable de laisser le sperme hétérologue en présence des œufs pendant plus de 20 min., la polyspermie étant assez fréquente dans le cas des hybrides. Parmi les quelques fécondations tentées, 3 ont donné un pourcentage élevé (allant de 50 à 80%) d'hybrides monospermiques: leur développement est normal — à part un certain ralentissement de la segmentation — jusqu'au stade blastula avancée. Il se bloque à ce moment et la cytolyse débute 1 à 2 jours après, à la température du laboratoire. Les fécondations hétérospermiques n'ont plus donné de bons résultats après le mois de mai. Malgré cet inconvénient, les avantages de la combinaison *Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂ sur beaucoup d'autres sont évidents: le nombre très élevé d'œufs pondus et le pourcentage très satisfaisant des fécondations réussies en font un matériel exceptionnellement favorable.

Il y a peu de choses à dire des techniques cytochimiques utilisées pour l'autoradiographie: les embryons ont été fixés à l'alcool acétique (5:1) et les coupes à la paraffine ont été soumises au procédé décrit par FICQ (1959). Pour la détection cytochimique des acides nucléiques, les embryons ont été fixés au Zenker acétique; les lames ont été colorées alternativement à l'Unna (vert de méthyle-pyronine) et au Feulgen.

Quant aux « pulse experiments », ils ont été effectués sur 20 blastulas bloquées de l'hybride *B. arenarum* ♀ × *R. temporaria* ♂ ou sur un nombre égal de blastulas témoins de *Bufo arenarum*. La durée du traitement au  $^{32}\text{P}$  (1 mC dans 3 ml.) a été de 30 min. Après extraction répétée des substances acidosolubles par l'acide perchlorique et délipidation intensive, le RNA a été hydrolysé à la potasse; les nucléotides ont été adsorbés sur du noir animal, puis élués avec un mélange pyridine-alcool. Les nucléotides ont été ensuite purifiés sur une colonne Dowex 1, l'élution se faisant avec de l'HCl 0.1 N. La détermination du spectre U.V. des diverses fractions provenant de la colonne et celle de leur radioactivité ont été effectuées et enregistrées automatiquement.

### III. RÉSULTATS DES EXPÉRIENCES

#### 1. EFFET DE NUCLÉOSIDES ET DE NUCLÉOTIDES

##### a) *Echinodermes.*

En ce qui concerne l'hybride *Paracentrotus* ♀ × *Arbacia* ♂, seuls les effets d'un mélange des 4 désoxyribonucléosides (100 µg/ml de chacun), de l'ATP (100 µg/ml) et du mélange des 4 désoxyribonucléosides + l'ATP, ont été étudiés.

Nous avons noté, chez les témoins, un effet initialement favorable de l'ATP sur la gastrulation, qui est accélérée. Mais le développement ultérieur est soit bloqué, soit anormal. En présence des 4 désoxyribonucléosides et, surtout, du mélange de ceux-ci avec l'ATP, le développement est influencé dans un sens franchement défavorable, se manifestant surtout par un retard du développement et des anomalies.

Un résultat intéressant a été obtenu dans le cas des hybrides: à deux reprises, des effets favorables sur le développement ont été obtenus en présence des 4 désoxyribonucléosides, surtout s'il y avait eu addition d'ATP: en effet, alors que la majorité des témoins étaient bloqués au stade blastula avancée, la fréquence des gastrulas normales était fortement augmentée dans ces conditions. Toutefois, le développement n'a pas dépassé ce stade. On notera que les désoxyribonucléosides exercent des effets opposés, au début, sur les témoins et sur les hybrides: mais, finalement, le développement se bloque, dans les deux cas, presque au même stade.

L'examen cytochimique (Feulgen et Unna) n'a pas révélé d'effets importants des substances ajoutées dans le cas des témoins. Par contre, chez les hybrides, on note, quel que soit le traitement, un net affaiblissement de la coloration au Feulgen et, surtout, au vert de méthyle; au contraire, les noyaux se colorent si intensivement à la pyronine qu'ils ne tranchent presque plus sur le cytoplasme. Ces changements n'ont, toutefois, pas été observés dans les expériences où le mélange des 4 désoxyribonucléosides et d'ATP avaient

provoqué une gastrulation sensiblement normale: dans ce cas, les noyaux après coloration à l'Unna, ressemblaient à ceux des témoins; cette « normalisation » n'était, cependant, qu'apparente, le Feulgen montrant bien que la chromatine « malade » avait conservé une distribution anarchique dans les noyaux.

En somme, les résultats montrent que, chez les oursins comme chez les Batraciens (BRACHET, BIELIAVSKY et TENCER, 1962) les noyaux des hybrides sont mal « tamponnés » en ce qui concerne l'équilibre des synthèses respectives du DNA et du RNA: un traitement par des substances exogènes tend à inhiber la synthèse du DNA et à stimuler celle du RNA nucléaire. On ne peut, toutefois, exclure que la forte pyroninophilie des noyaux, dans les hybrides traités, puisse être due à une dépolymérisation du DNA. Cette interprétation des observations paraît, cependant, moins probable que la première.

#### b) *Batraciens.*

Les expériences sur les combinaisons *Bufo vulgaris* ♀ × *Rana temporaria* ♂ et *Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂ ont été beaucoup plus nombreuses et plus variées que celles qui ont été effectuées sur les hybrides entre oursins. Les essais, dans le cas de la seconde des deux combinaisons (*B. arenarum* ♀ × *R. temporaria* ♂) ont été exactement identiques à ceux qui viennent d'être décrits à propos des oursins (l'ATP, les 4 désoxyribonucléosides et le mélange des deux). En outre, des traitements par un mélange des 4 désoxyribonucléoside triphosphates ont été effectués aussi.

Dans le cas de la combinaison *Bufo vulgaris* ♀ × *R. temporaria* ♂, les essais ont été plus nombreux encore: à la liste des substances étudiées, il convient d'ajouter le TPNH et un mélange des 4 ribonucléosides.

Il serait fastidieux de décrire chacun des résultats obtenus et il nous semble préférable de les rassembler dans le tableau (*Tableau I*) ci-après.

Toutes les substances ont été essayées à la concentration de 100 µg/ml. Le signe 0 signifie qu'aucune différence par rapport aux témoins n'a été observée.

TABLEAU I.

*Traitement au stade morula pendant 36 h.*

- a) *Bufo vulgaris* ♀ × *Rana temporaria* ♂ = blocage au stade blastula. Les témoins *Bufo vulgaris* × *Bufo vulgaris* se sont bien développés jusqu'à l'éclosion.

Substances ajoutées	Effets sur les témoins	Effets sur les hybrides
Mélange des 4 désoxy-ribonucléosides	0, retard après la neurulation	0
ATP	Accélération de la neurulation	0
ATP + les 4 désoxyribo-nucléosides	Accélération de la neurulation	2 gastrulas
TPNH	0	0
ATP + TPNH	0	2 gastrulas
Mélange des 4 ribo-nucléosides	Accélération nette	2 gastrulas
Idem + ATP	0	2 gastrulas
Idem + TPNH	Accélération nette	0
Idem + ATP + TPNH	Légère accélération	0

- b) *Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂. Blocage au stade blastula. Bon développement, jusqu'à l'éclosion, des témoins *Bufo arenarum* × *Bufo arenarum*.

Substances ajoutées	Effets sur les témoins	Effets sur les hybrides
ATP	0	0
Mélange des 4 désoxy-ribonucléosides	Retard de la neurulation	8 gastrulas *
Idem + ATP	0	0
Mélange des 4 désoxy-ribonucléosidetriphosphates	0	1 gastrula

\* Deux de ces gastrulas ont continué à se développer et ont fourni un système nerveux asymétrique.



Il est assez remarquable que, comme dans le cas des hybrides létaux entre les oursins, un mélange des 4 désoxyribonucléosides (éventuellement additionné d'ATP) ait toujours exercé un effet favorable sur les hybrides et ralenti le développement des témoins. A vrai dire, l'effet favorable sur les hybrides est modéré et il se limite, en général, à l'apparition d'une encoche blastoporale peu profonde. Cependant, dans deux cas, le mélange des 4 désoxyribonucléosides a provoqué, chez les hybrides *Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂, une neurulation atypique: le système nerveux formé était fortement asymétrique, ce qui laisse à penser qu'une moitié seulement de laèvre dorsale du blastopore ait agi comme inducteur.

Les embryons de la combinaison *Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂ n'ont pas encore été étudiés au point de vue cytochimique, les expériences n'ayant eu lieu qu'au printemps dernier. Par contre, les hybrides entre *Bufo vulgaris* ♀ × *Rana temporaria* ♂ ont été examinés après coloration au Feulgen et à l'Unna. Dans le tableau II, on trouvera un résumé des observations qui ont pu être faites. Le signe + signifie qu'on a pu noter une augmentation de la coloration et le signe — que celle-ci a diminué d'intensité. Comme dans le cas des hybrides entre oursins, les effets sur les témoins ont été trop faibles pour que les méthodes cytochimiques permettent de tirer des conclusions. Mais il est clair que l'accélération du développement (cfr. Tableau I) qui se produit dans certains cas (ATP, ATP + les 4 désoxyribonucléosides, mélange des 4 ribonucléosides, avec ou sans ATP) va de pair avec une augmentation de la fréquence des mitoses, indice d'une synthèse accrue de DNA.

Il n'en va pas de même pour les hybrides: comme le montre le tableau II, la teneur en RNA des noyaux (ou, tout au moins, leur colorabilité par la pyronine) peut être fortement modifiée.

Ce tableau appelle quelques commentaires: tout d'abord, sauf pour le mélange des 4 ribonucléosides, les traitements qui ont produit l'apparition sporadique de gastrulas (donc, un léger progrès du développement) ont fortement amélioré l'aspect des noyaux: comme chez les témoins, la chromatine se colore en bleu à l'Unna et les nucléoles sont bien colorés après ces traitements (ATP + 4 désoxyribonucléosides; ATP + TPNH; ATP + 4 ribonucléosides). Il n'y a pas de surcharge en RNA des noyaux et les mitoses sont fréquentes après un traitement de 1 à 2 jours.

TABLEAU II.

*Affinité pour la pyronine (RNA) des noyaux dans les hybrides létaux  
Bufo vulgaris ♀ × Rana temporaria ♂.*

Traitement	Augmentation (+), statu quo (0) ou diminution (—)
4 désoxyribonucléosides	+
ATP	— ou +
ATP + 4 désoxyribonucléosides	0 (normalisation)
TPNH	—
ATP + TPNH	0 (normalisation)
4 ribonucléosides	+
4 ribonucléosides + ATP	0 (normalisation)
4 ribonucléosides + TPNH	+
4 ribonucléosides + ATP + TPNH	+

L'augmentation de la teneur en RNA après addition des 4 ribonucléosides est évidemment logique; mais cette augmentation se produit aussi en présence des 4 désoxyribonucléosides: ce résultat est imprévu, mais on se souviendra de ce que nous l'avons également observé dans le cas des hybrides entre oursins. Des observations autoradiographiques, actuellement en cours, indiquent que le mélange des 4 désoxyribonucléosides semble exercer un effet défavorable sur la synthèse du DNA: les mécanismes de synthèse des acides nucléiques pourraient dès lors être orientés vers la synthèse du RNA plutôt que vers celle du DNA. C'est d'une manière analogue qu'on peut interpréter les effets du TPNH: celui-ci favorise la réduction du ribose en désoxyribose et, par conséquent, la synthèse du DNA par rapport à celle du RNA. Effectivement, nous avons observé une très sensible diminution de la teneur en RNA des noyaux chez les hybrides traités au TPNH où les mitoses sont nombreuses. Quant à l'ATP, ses effets sont variables d'une expérience à l'autre: selon les pontes, il augmente ou diminue la teneur en RNA des noyaux. Cette varia-

bilité est, vraisemblablement, en rapport avec l'état physiologique des hybrides, en particulier avec leur production d'énergie.

Quant aux résultats obtenus en traitant les embryons par des mélanges plus complexes, il nous paraît dangereux de chercher à les interpréter sur le plan biochimique: des différences de perméabilité aux divers composants de ces mélanges suffiraient, à elles seules, pour compliquer les faits de façon excessive. Notons, cependant, une tendance à la neutralisation des effets des ribo- et des désoxyribonucléosides lorsqu'on leur ajoute de l'ATP; les conséquences en sont heureuses en ce qui concerne le développement.

Mentionnons, pour terminer, les premiers résultats d'une étude autoradiographique de la combinaison *Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂. Elle a porté sur les effets du citrate, dont nous avons montré, précédemment, qu'il tend, comme le TPNH, à inhiber la synthèse du RNA nucléaire (BRACHET, BIELIAVSKY et TENCER, 1962). Les expériences ont montré que la synthèse du DNA (incorporation de thymidine) diminue à mesure que le blocage du développement se prolonge; le citrate stimule cette incorporation de la thymidine dans le DNA au début, mais il perd ensuite son efficacité. Quant à l'uridine, elle s'incorpore uniquement dans le RNA en l'absence de citrate; en présence de celui-ci, l'uridine devient un bon précurseur du DNA, à condition que la durée du blocage du développement ne soit pas excessive. Ces expériences confirment la conclusion que la synthèse des acides nucléiques, chez les hybrides létaux, est anormalement influençable par l'addition de substances exogènes, susceptibles de modifier l'équilibre TPN:TPNH; elles montrent aussi que la durée du blocage du développement constitue un facteur très important, qu'il conviendra d'étudier de plus près, dans le contrôle de la synthèse des acides nucléiques.

## 2. NATURE DES RNA SYNTHÉTISÉS (« PULSES » AU $^{32}\text{P}$ )

### PAR LES HYBRIDES.

Nos expériences n'en sont encore qu'à leurs débuts et les seuls résultats qui méritent d'être rapportés ici portent sur la combinaison *Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂. Quelques essais effectués sur l'hybride *Paracentrotus* ♀ × *Arbacia* ♂ n'ont, en effet, donné qu'un marquage tellement faible du RNA qu'aucune conclusion n'a pu en être tirée; ces tentatives mériteraient, cependant,

d'être reprises sur un matériel biologique plus abondant que celui dont nous disposions.

Le tableau III résume les expériences faites sur l'hybride *Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂. Rappelons qu'il s'agissait de pulses de 30 min. (sauf dans l'expérience III, où le pulse n'était que de 10 min.) et qu'on ajoutait 1 mc de  $^{32}\text{P}$  dans 3 ml. à des blastulas bloquées (hybrides) ou à des témoins (*Bufo arenarum* ♀ × *Bufo arenarum* ♂).

TABLEAU III.

Signification des symboles :

A = % acide adénilyque; C = % acide cytidilyque; G = % acide guanylique; U = % acide uridylique. Pu = purines; Py = pyrimidines.

Hy = hybrides. T = témoins. c.min = coups/minute.

c. min. totaux	c. min. dans le RNA global	Radio-activité du RNA en % du total	% C	% A	% G	% U	$\frac{\text{Pu}}{\text{Py}}$
Exp. I							
Hy 74.000	6.082	9%	15,0	28,0	28,0	29,0	1,03
T 125.000	3.094	2,4%	20,1	26,3	29,6	24,0	1,27
Exp. II							
Hy 92.000	915	1%	14,8	24,6	39,1	21,3	1,76
Hy 110.000	1.058	1%	23,0	31,9	27,3	17,9	1,60
Hy 108.000	1.217	1%	17,2	24,7	37,5	20,8	1,64
T 120.000	2.874	2%	22,1	25,0	30,1	22,8	1,23
T 130.000	2.500	2%	22,3	25,3	30,6	21,8	1,23
T 112.000	4.800	3%	23,3	25,3	30,6	21,8	1,23
Exp. III							
Hy 138.000	6.022	5%	22,2	21,0	31,3	24,5	1,15
T 137.000	714	0,7%	20,0	28,9	26,0	25,0	1,22

Il serait prématuré de vouloir tirer des conclusions définitives de ces premières expériences, qui devront être multipliées et précisées, en séparant sur colonnes les diverses formes de RNA synthétisées. Les résultats actuels ne portent donc encore que sur le RNA global synthétisé en un temps court. Ils montrent que, alors que la composition de ce RNA est très constante chez les témoins

(le rapport  $\frac{Pu}{Py}$  ne varie que de 1,22 à 1,27), elle est très variable chez les hybrides (le rapport  $\frac{Pu}{Py}$  oscille entre 1,03 et 1,76). En aucun cas,

la composition en bases du RNA synthétisé par les hybrides n'a été identique à celle du RNA formé par les témoins. On remarque, en outre, que, dans les expériences I et III, les hybrides ont synthétisé plus activement que les témoins; dans ces deux expériences, les

RNA formés par les hybrides avaient un rapport  $\frac{Pu}{Py}$  bas, inférieur à la normale (1,03; 1,15). Au contraire, dans l'expérience II, l'incorporation du  $^{32}P$  dans le RNA a été plus faible chez les hybrides que chez les témoins; dans ce cas, le rapport  $\frac{Pu}{Py}$  a été exagérément élevé (1,60 à 1,76).

Nous pensons que cette différence, si elle se confirme, pourrait être en rapport avec l'état physiologique des hybrides (durée du blocage, proportion de noyaux exagérément riches en RNA) dont nous avons déjà vu plus haut l'importance. Quoiqu'il en soit, une chose est certaine: le RNA global synthétisé par les hybrides pendant un temps court est anormal dans sa composition.

### 3. EFFETS D'INHIBITEURS DU MÉTABOLISME SUR LE DÉVELOPPEMENT DE L'HYBRIDE LÉTAL BUFO ARENARUM ♀ × RANA TEMPORARIA ♂.

Partant de l'idée que les acides nucléiques (DNA, RNA) synthétisés par les hybrides seraient anormaux et que, par voie de conséquence, les protéines synthétisées seraient également anormales, nous avons étudié récemment les effets d'inhibiteurs des synthèses nucléoprotéiques sur les hybrides létaux. On ne pouvait, évidemment, pas attendre des résultats miraculeux de ces essais, puisque les substances que nous avons employées bloquent le développement normal. En effet, nous n'avons rien trouvé de très remarquable; mais il se pourrait que l'analyse cytochimique des embryons (qui reste à faire) apporte des surprises intéressantes.

Voici les substances qui ont été utilisées et les raisons pour lesquelles elles ont été choisies: pour le blocage de la synthèse des

RNA nucléaires, l'emploi de l'actinomycine D s'imposait. La ribonucléase (RNase) a été utilisée avec l'espoir de détruire, en partie tout au moins, les RNA préexistants. En ce qui concerne le DNA, nous avons utilisé le phényléthylalcoool dans l'espoir d'empêcher sa synthèse et la désoxyribonucléase (DNase) dans celui de démolir cet acide nucléique. La puromycine a été essayée en tant qu'inhibiteur des synthèses de protéines. La formamide permet de rompre les liaisons hydrogènes et, par conséquent, de séparer l'une de l'autre les deux hélices du DNA: elle pourrait, peut-être, empêcher la formation de molécules hybrides entre les DNA de deux espèces parentales. Enfin, des embryons normaux et hybrides ont été soumis à un choc thermique (1 h. à 37°): en effet, les œufs de *Rana temporaria* sont beaucoup plus sensibles à la chaleur que ceux de *Bufo arenarum*; on pouvait donc espérer que le choc thermique inactiverait certains processus biochimiques défavorables, induits par le spermatozoïde de *Rana temporaria* après sa pénétration dans l'œuf de *Bufo arenarum*: il aurait pu en résulter un meilleur développement de l'hybride. Rappelons, toutefois, que des essais précédents, effectués sur la combinaison *Rana esculenta* ♀ × *Rana temporaria* ♂, s'étaient soldés par un échec complet (BRACHET, 1954).

Nous n'entrerons pas ici dans les détails en ce qui concerne les effets exercés sur les embryons normaux par les diverses substances que nous avons essayées: l'actinomycine (BRACHET et DENIS, 1963) et la puromycine (BRACHET, 1963) n'ont guère d'effets avant la gastrulation; elles empêchent, par la suite, la différenciation des embryons traités. La ribonucléase (BRACHET et LEDOUX, 1955) inhibe la segmentation des embryons de Batraciens; elle n'a guère d'effets aux stades ultérieurs, sans doute en raison d'une mauvaise pénétration. La formamide, qui est actuellement à l'étude dans notre laboratoire, arrête, à fortes concentrations (1 M) la segmentation en détruisant les fuseaux; à concentrations plus faibles (0,3 M-0,1 M), elle permet l'obtention de têtards, où l'utilisation du vitellus et le développement des branchies sont fortement inhibés.

Le tableau IV résume les résultats obtenus, tant sur les témoins que sur les hybrides, après un traitement de 24 heures à 21°.

TABLEAU IV.

Substance ajoutée	Témoins	Hybrides
Actinomycine D 30 $\mu\text{g/ml}$	Retard	Cytolyse retardée
Actinomycine D 15 $\mu\text{g/ml}$	Retard modéré	Pas d'effets
Puromycine 30 $\mu\text{g/ml}$	Retard	Pas d'effets
Puromycine 15 $\mu\text{g/ml}$	Retard modéré	Pas d'effets
RNase 1 $\text{mg/ml}$	Cytolyse (st. blastula)	Cytolyse rapide
RNase 300 $\mu\text{g/ml}$	Id.	Id.
RNase 100 $\mu\text{g/ml}$	Retard	Cytolyse retardée
RNase 30 $\mu\text{g/ml}$	Pas d'effets	Pas d'effets
DNAase 1 $\text{mg/ml}$	Gros retard	Cytolyse rapide
DNAase 300 $\mu\text{g/ml}$	Gros retard	Pas d'effets
DNAase 100 $\mu\text{g/ml}$	Pas d'effets	Pas d'effets
DNAase 30 $\mu\text{g/ml}$	Pas d'effets	Pas d'effets
Formamide 1M.	Arrêt au st. blastula	Cytolyse retardée
Formamide M/3	Retard	Cytolyse accélérée
Formamide M/6	Pas d'effets	Cytolyse accélérée
Phényléthylalcool 0.1%	Retard	Pas d'effets
Choc thermique (1 h., 37°)	Pas d'effets	Cytolyse accélérée

On ne peut guère tirer de conclusions de ces premiers essais: il est, cependant, curieux de constater que les substances qui empêchent la synthèse du RNA (actinomycine D) ou qui le détruisent (RNase, 100  $\mu\text{g/ml}$ ) ont très nettement retardé la cytolyse des hybrides létaux. Il semble donc que la production des RNA anormaux soit défavorable pour ceux-ci. Mais il ne suffit pas d'empêcher leur production (ou de les détruire) pour que le développement se poursuive au delà du stade blastula: c'est donc uniquement la durée de survie des hybrides qui est favorablement influencée par l'actinomycine D et par la RNase. Ajoutons qu'un premier examen cytochimique des hybrides traités à l'actinomycine D a montré que leurs noyaux ne contiennent plus aucune trace de matériel colorable à la pyronine: l'inhibition de la synthèse du RNA nucléaire par l'actinomycine paraît être beaucoup plus profonde dans le cas des hybrides que dans celui des témoins.

Une autre substance a, également, protégé les hybrides létaux contre la cytolyse: c'est la formamide concentrée (1 M). Un examen cytochimique poussé s'impose avant qu'on puisse établir si l'effet de la formamide a porté sur le DNA plutôt que sur les protéines.

Notons encore les effets défavorables du choc thermique sur les hybrides, résultat qui confirme celui que nous avons obtenu pour les hybrides entre grenouilles. Signalons, à propos des effets de ce choc sur les témoins, une observation curieuse: c'est que les embryons qui avaient été soumis au chauffage, au stade blastula, ont donné naissance à des embryons normaux, sauf que leur queue était absente ou double. Il semblerait donc que, chez *Bufo arenarum*, un choc thermique au stade blastula exerce un effet inhibiteur spécifique sur l'induction spinocaudale.

Il n'y a rien à dire, pour l'instant, des autres substances que nous avons essayées, puisqu'elles n'ont pas exercé d'effets appréciables.

#### IV. RÉSUMÉ ET DISCUSSION

Les résultats obtenus peuvent se résumer en quelques lignes:

1) la nouvelle combinaison létale (*Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂) que nous avons utilisée devrait être fructueuse pour les recherches biochimiques, en raison de l'abondance d'un matériel qu'on peut aisément obtenir.

2) Tant chez les Echinodermes que chez les Batraciens, les noyaux des hybrides létaux réagissent de façon excessive à l'addition de nucléosides et de nucléotides: à cet égard, ils sont beaucoup moins bien « tamponnés » que ceux des témoins.

3) Nos expériences confirment l'idée que la réduction du ribose en désoxyribose, qui est contrôlée par l'équilibre TPNH:TPN, joue un rôle important dans la régulation de la synthèse du DNA chez les Batraciens. Cette régulation est défailante chez les hybrides, surtout quand le blocage du développement se prolonge. Toutefois, les arguments actuels en faveur de cette interprétation demeurent indirects: une attaque biochimique directe (dosage de l'équilibre TPN:TPNH, étude des mécanismes enzymatiques de réduction du ribose) est indispensable pour arriver à une conclusion solidement établie.

4) Le RNA global synthétisé par les hybrides létaux est franchement anormal en ce qui concerne sa composition en bases; mais la suppression de sa synthèse par l'actinomycine D ne suffit pas



à améliorer le développement des hybrides létaux: cette suppression ne fait que prolonger leur durée de vie. Dans ce cas encore, une analyse biochimique approfondie s'impose: il faudra fractionner sur colonnes les divers types de RNA synthétisés pendant les «pulses», rechercher les DNA et les RNA polymérases dans les noyaux isolés, etc.

Dans des travaux antérieurs (BRACHET, BIELIAVSKY et TENCER, 1962; FICQ et BRACHET, 1963), nous avons discuté de nombreuses hypothèses destinées à expliquer, à l'échelle moléculaire, le blocage des hybrides létaux: union illégitime entre les DNA des deux espèces parentales (conduisant à la production de molécules hybrides de DNA), formation d'hybrides entre du DNA à une hélice et du RNA (dont celui-ci ne peut se dégager), production par le RNA anormal des hybrides létaux de protéines cytoplasmiques inactives (au point de vue enzymatique, par exemple), production par le noyau des hybrides d'histones anormales qui réprimerait l'activité des gènes, etc. Nous n'y revenons que pour montrer que les problèmes que posent les hybrides létaux ne seront résolus qu'en faisant appel aux méthodes et aux concepts de la Biologie moléculaire. En ce qui concerne les Batraciens, nous espérons que la nouvelle combinaison *Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂ permettra d'aborder l'énigme de la léthalité en suivant cette voie; en ce qui concerne les Echinodermes, il suffit de faire confiance à la perspicacité et à l'ardeur au travail de Fritz Baltzer et de ses élèves.

## SUMMARY

1. A new lethal hybrid combination (*Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂) is described. Its development stops at the late blastula stage. Very large numbers of blocked blastulae can be obtained in the case of this combination.

2. Addition of nucleosides or nucleotides markedly shifts the  $\frac{\text{DNA}}{\text{RNA}}$  ratio in the nuclei of lethal hybrids. The results suggest that the reduction of ribose into desoxyribose plays an important regulatory role in the synthesis of DNA in amphibian eggs. This regulatory mechanism is deficient in lethal hybrids.

3. Blocked lethal hybrids still produce RNA; but the base composition of the newly synthesized RNA is very abnormal. Inhibition of nuclear RNA synthesis by actinomycin D does not improve the further development of lethal hybrids.

4. The significance of these results is briefly discussed.

## ZUSAMMENFASSUNG

1. Eine neue letale Bastardkombination (*Bufo arenarum* ♀ × *Rana temporaria* ♂) wird beschrieben; die Entwicklung wird im späteren Blastula-Stadium eingestellt. Mit Hilfe dieser Kombination können blockierte Blastulae in grosser Zahl gewonnen werden.

2. Zufuhr von Nukleosiden oder Nukleotiden verändert das Verhältnis  $\frac{DNS}{RNS}$  in den Kernen der letalen Bastarde markant. Die Resultate machen wahrscheinlich, dass die Reduktion von Ribose zu Desoxyribose regulatorisch in die DNS-Synthese von Amphibien-eiern eingreift. Dieser Regulationsmechanismus ist bei letalen Bastarden gestört.

3. Blockierte Letalbastarde bilden immer noch RNS; aber die Basen-Zusammensetzung der neu synthetisierten RNS ist abnorm. Hemmung der RNS-Synthese im Kern durch Actinomycin D verbessert die weitere Entwicklung der Letalbastarde nicht.

4. Die Bedeutung dieser Befunde wird kurz diskutiert.

## BIBLIOGRAPHIE

- BALTZER, F. 1940. *Über erbliche letale Entwicklung und Austauschbarkeit artverschiedenen Kerne bei Bastarden*. Naturwiss. 28: 196-205.
- CHEN, P. S. et TARDENT, P. 1961. *Embryonalentwicklung, DNS-synthese und Respiration des Bastards *Arbacia* ♀ × *Paracentrotus* ♂, mit Vergleichen zu anderen Seeigelbastarden*. Arch. der Julius Klaus Stiftung für Vererbungsforsch. sozial anthropol. und Rassenhygiene 36: 126-135.
- et BERNHARD, M. 1955. *Weitere Beobachtungen über Letalität und Vererbungsrichtung beim Seeigelbastard *Paracentrotus* ♀ × *Arbacia* ♂*. Exptl. Cell Research, suppl. 3: 16-26.

- BRACHET, J. 1944. *Acides nucléiques et morphogénèse au cours de la parthénogénèse, la polyspermie et l'hybridation chez les Anoures*. Ann. Soc. roy. Zool. Belg. 75:49-74.
- 1954. *Constitution anormale du noyau et métabolisme de l'embryon chez les Batraciens*. Arch. Biol. 65: 1-72.
- , BIELIAVSKY, N. et TENCER, R. 1962. *Nouvelles observations et hypothèses sur la létalité chez les hybrides*. Bull. Cl. Sci. Acad. roy. Belgique. 5<sup>e</sup> série, 68: 255-277.
- 1960. *The Biochemistry of Development*. Pergamon Press. London and New York 320 pp.
- et DENIS, H. 1963. *Effects of Actinomycin D on Morphogenesis*. Nature 198: 205-206.
- 1963. *The effects of puromycin on morphogenesis in Amphibian eggs and Acetabularia*. Nature (sous presse).
- et LEDOUX, L. 1955. *L'action de la ribonucléase sur la division des œufs d'Amphibiens*. Exptl. Cell Research. Suppl. 3: 27-39.
- CHEN, P. S., BALTZER, F. et ZELLER, C. 1960. *Changes in nucleic acids in early amphibian and sea urchin embryos (Pure species, merogonic and hybrid combinations)*. Sympos. on Germ Cells and Development. Inst. intern. Embryol. et Fondat. Baselli, 506-523.
- COHEN, S. 1963. <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> fixation and the accumulation of malonic acid in amphibian hybrids (*R. pipiens* ♀ × *R. sylvatica* ♂). Exptl. Cell Research 29: 207-211.
- FICQ, A. 1959. *Autoradiography*. dans: The Cell 1: 67-90. Ed. J. Brachet et A. E. Mirsky. Academic Press, N.Y.
- et BRACHET, J. 1963. *Métabolisme des acides nucléiques et des protéines chez les embryons normaux et les hybrides létaux entre Echinodermes*. Exptl. Cell Research (sous presse).
- GREGG, J. R. 1957. *Morphogenesis and metabolism of gastrula-arrested embryos in the hybrid Rana pipiens ♀ × Rana sylvatica ♂*. In: The Beginnings of Embryonic Development. A.A.A.S. Washington, pp. 231-261.
- HADORN, E. 1932. *Über Organentwicklung und histologische Differenzierung in transplantierten merogonischen Bastardgeweben (Triton palmatus ♀ × Triton cristatus ♂)*. Wilhelm Roux' Arch. Entwicklungsmech. Organ. 125: 496.
- ZELLER, C. 1956. *Über den Ribonucleinsäure Stoffwechsel des Bastardmerogons Triton palmatus ♀ × Triton cristatus ♂*. Roux' Arch. Entwicklungsmech. Organism. 148: 311-335.
-



## Le rôle de facteurs auto-inhibiteurs dans la régénération des Planaires

(Une interprétation nouvelle de la théorie des gradients  
physiologiques de CHILD)

par

**Etienne WOLFF<sup>1</sup>, Théodore LENDER<sup>2</sup> et  
Catherine ZILLER-SENGEL<sup>1</sup>**

Avec 14 figures dans le texte.

La théorie des gradients physiologiques, élaborée par CHILD (1920) a connu, au cours des quarante dernières années, un succès considérable. D'abord appliquée par son auteur aux processus de régénération, cette notion a été étendue par de nombreux biologistes à des phénomènes du développement normal. Les bases physiologiques de cette théorie ont été longuement discutées; mais les notions de gradients, de dominance, ont été confirmées par de nombreuses recherches de morphologie expérimentale. Il ressort de ces données que certains facteurs, actifs dans la morphogénèse, sont répartis d'une manière décroissante le long de certains axes, à partir d'un centre où ils ont leur effet maximum. Cette notion s'est révélée adéquate pour grouper des propriétés communes à beaucoup de phénomènes du développement. Elle est actuellement employée par la plupart des auteurs qui cherchent à donner une explication générale des mécanismes inducteurs qui interviennent

---

<sup>1</sup> Laboratoire d'Embryologie expérimentale du Collège de France et du CNRS à Nogent-sur-Marne (Seine).

<sup>2</sup> Laboratoire de Biologie animale de la Faculté des Sciences de Paris (Orsay).

dans l'organisation primaire d'un embryon (DALCQ et PASTEELS 1938, YAMADA 1958, TOIVONEN et SAXÉN 1955).

Ces recherches permettent de supposer qu'il existe des relations quantitatives entre certains facteurs morphogénétiques. Mais celles-ci sont encore mal élucidées.

Nous avons cherché à expliquer d'une manière concrète les phénomènes de dominance et d'inhibition qui se manifestent dans la régénération d'un groupe qui a été le point de départ des recherches de CHILD, les Turbellariés Tricladés. Nous sommes heureux de dédier cette contribution au professeur Fr. BALTZER, dont les remarquables travaux ont élucidé tant de problèmes de morphogénèse, chez les Invertébrés comme chez les Vertébrés.

\* \* \*

L'étude des Planaires d'eau douce douées du pouvoir de régénération totale (*Dugesia lugubris*, *Polycelis nigra*, *Dugesia tigrina*) a permis d'élucider deux catégories de facteurs qui jouent un rôle prépondérant dans la régénération. La morphogénèse des tissus et organes régénérés peut être expliquée par une succession d'inductions et d'inhibitions. Le problème général des inductions a été traité dans des travaux antérieurs (E. WOLFF 1962; E. WOLFF et Th. LENDER 1962).

Nous étudierons ici des mécanismes inhibiteurs qui empêchent qu'un même organe soit plusieurs fois régénéré au cours des processus de reconstitution du corps.

Ces mêmes facteurs empêchent que, dans un organisme intact, les cellules de régénération totipotentes ne forment des organes supplémentaires, à la moindre lésion provoquant un appel de néoblastes.

Des recherches effectuées dans nos laboratoires ont mis en évidence l'existence de substances inhibitrices dans le cas de deux organes précis: le cerveau et le pharynx.

## I. ACTION INHIBITRICE DU CERVEAU

Plusieurs auteurs ont montré que le cerveau d'une Planaire exerce une puissante inhibition vis-à-vis de la différenciation d'une

tête supplémentaire greffée dans la région antérieure (RAND et BROWNE 1926, MILLER 1938).

CHEVTCHENKO (1937) a montré que cette activité inhibitrice diminue, lorsqu'une tête est greffée à des distances variables de la région antérieure. Elle est pratiquement nulle, lorsque le greffon est implanté dans la région caudale. De même, chaque zone d'une planaire inhibe puissamment la différenciation d'une région homologue greffée à ce niveau. L'intensité de l'inhibition décroît avec la distance.

L'un de nous (LENDER, 1955, 1956, 1960) a précisé la nature et les conditions de l'inhibition exercée par le cerveau à l'aide d'expériences de greffes et d'extraits de cerveau.

#### A. GREFFES

Un cerveau est implanté dans la région antérieure de *Dugesia lugubris*.

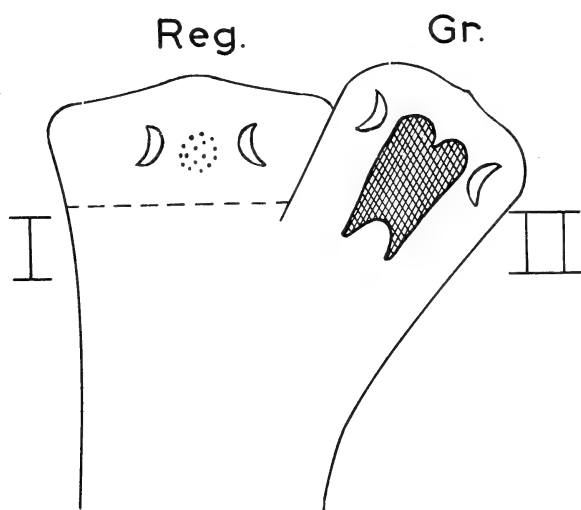


FIG. 1.

Schéma montrant l'inhibition du cerveau d'un régénérat de tête par le cerveau d'un greffon.

Gr. = cerveau greffé (en quadrillé) ayant organisé une tête secondaire II.

Reg. = bourgeon de régénération de tête après une amputation de la tête normale I. Pas de cerveau régénéré; mais amas de néoblastes indifférenciés entre les yeux.

Après décapitation de la Planaire hôte, le greffon peut évoluer de deux façons différentes.

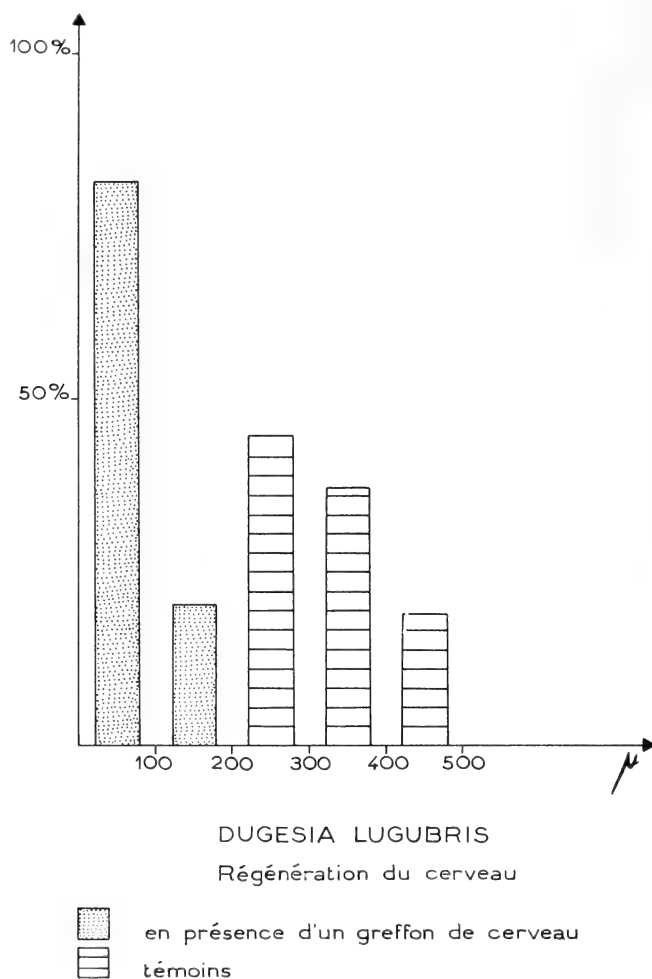


FIG. 2.

Histogramme montrant les classes de répartition des longueurs de cerveau chez les témoins (traits horizontaux) et chez les sujets traités (pointillé) (d'après Th. LENDER 1960).

1. Dans 10 cas, le cerveau greffé devient le cerveau de la tête régénérée. La forme de la tête est normale, et les deux yeux sont reconstitués.



2. Dans 10 autres cas, l'hôte régénère une tête distincte du greffon, autour duquel s'organise une seconde tête. Mais la tête de l'hôte, dans laquelle se différencient des yeux, ne contient pas trace de cerveau (4 cas, fig. 1) ou reconstitue une masse nerveuse peu importante (longueur moyenne:  $49\ \mu$ , contre  $326\ \mu$  chez les témoins) (fig. 2). On trouve une accumulation importante de néoblastes non différenciés, à la place du cerveau, dans les cas où celui-ci n'est pas régénéré. Ce résultat apporte une preuve supplémentaire de l'inhibition exercée par un cerveau différencié sur une ébauche non différenciée de ce même organe.

### B. EXTRAITS

Des Planaires *Polycelis nigra*, *Dugesia lugubris* sont privées de cerveau et élevées dans de l'eau contenant des broyats de têtes soit à l'état brut, soit à l'état de surnageant après centrifugation à 10 000 g. L'extrait est utilisé à raison de 20 têtes par récipient de

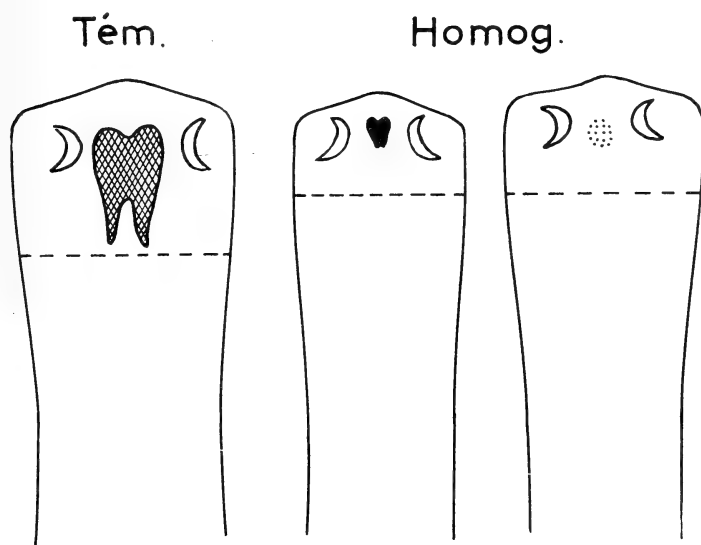


FIG. 3.

Schéma représentant l'action des extraits de tête sur la régénération du cerveau.

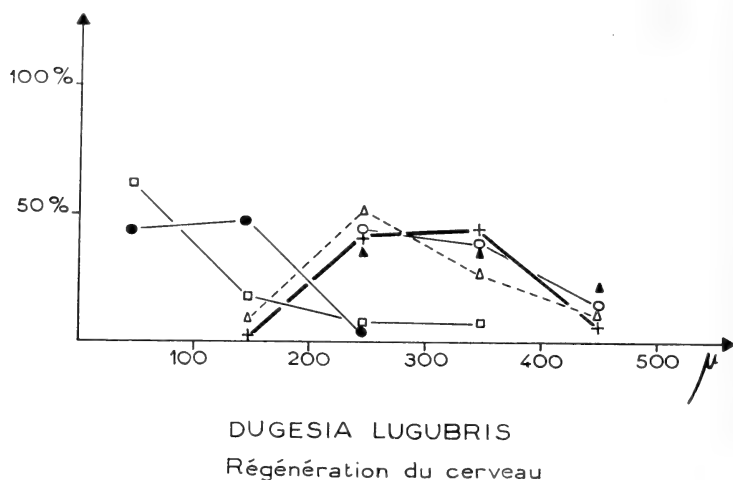
Tém. = témoins: régénération d'un cerveau normal.

Homog. = deux types de résultats de la régénération céphalique après action des extraits.

Au milieu: cerveau très réduit entre 2 yeux normaux.

A droite: pas de cerveau; accumulation de néoblastes indifférenciés entre les deux yeux.

10 ml d'eau. 4 individus opérés sont placés dans chaque récipient. (Pour le détail de l'expérience, voir LENDER 1960). Les témoins sont fournis par des animaux élevés dans les mêmes conditions sans broyats, et par des animaux élevés en présence d'extraits de queue préparés dans les mêmes conditions.



- a/ en présence de broyats de têtes
- broyats bruts
  - surnageant de la centrifugation
  - culot de la centrifugation
- b/ en présence de broyats de queues
- △ broyats bruts
  - ▲ surnageant de la centrifugation
- c/ témoins
- +

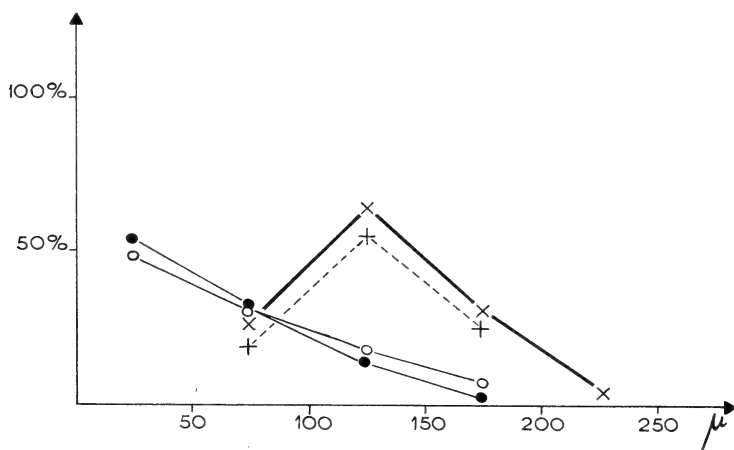
FIG. 4.

Courbes représentant les pourcentages de planaires en fonction des longueurs de cerveaux régénérés chez *Dugesia lugubris*. Les courbes des Planaires traitées par les extraits de tête sont considérablement décalées par rapport aux courbes témoins (non traités et traités par des broyats de queues). (d'après Th. LENDER 1960).

Résumons brièvement les résultats.

Sur 30 Planaires *D. lugubris* mises en présence de l'extrait brut, 5 n'ont pas régénéré de cerveaux, la majorité des autres ne différencient qu'une faible masse de tissu nerveux ( $97 \mu$  en moyenne) (fig. 3 et 4).

Sur 41 individus de la même espèce mis en présence du liquide surnageant, 7 ne régénèrent pas de tissu nerveux, 34 ont régénéré du tissu nerveux sur une longueur de  $20\ \mu$  en moyenne. Les témoins non soumis à l'extrait de cerveau régénèrent un cerveau d'une longueur moyenne de  $219\ \mu$ . Les témoins soumis à des broyats de queue régénèrent, comme les témoins ordinaires, des cerveaux de  $309$  à  $332\ \mu$  (fig. 4).



POLYCELIS NIGRA  
Régénération du cerveau

- en présence de broyats bruts de tête
- en présence du surnageant du broyat de tête
- + en présence du broyat brut de queue
- X témoins

FIG. 5.

Mêmes courbes chez *Polycelis nigra*. La diminution de longueur des cerveaux traités est encore très nette. (d'après Th. LENDER 1960).

Des Planaires de l'espèce *Polycelis nigra* soumises au même traitement ont donné des résultats analogues. Un plus grand nombre encore ne régénèrent pas de cerveau (fig. 5).

Ces recherches démontrent que l'inhibition d'un deuxième cerveau est due à une substance diffusible contenue dans la tête greffée, très probablement dans le cerveau lui-même.

## II. ACTION INHIBITRICE DE LA RÉGION PHARYNGIENNE

Des recherches récentes de C. ZILLER-SENGEL (résultats inédits) montrent que des extraits de régions pharyngiennes exercent une action inhibitrice sur la régénération du pharynx.

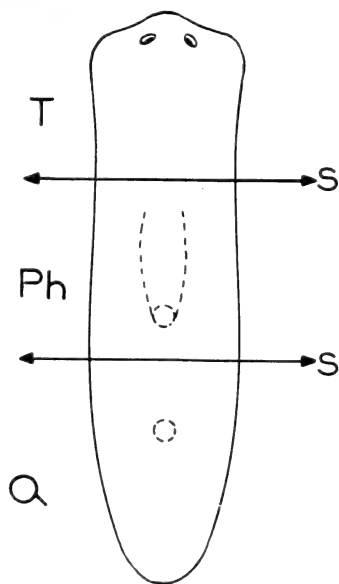


FIG. 6. — Préparation des extraits.

Planaria divisée en trois tronçons.

T. = région céphalique.

Ph. = région pharyngienne.

Q. = région caudale.

S. = niveaux des sections transversales.

Les expériences ont été conduites de la manière suivante: les Planaires donneuses de broyat sont divisées en 3 régions: céphalique, pharyngienne et caudale (fig. 6). Les tronçons de chaque catégorie ont été pesés, après séchage, de manière à obtenir un poids égal de têtes, de régions pharyngiennes et de queues dans chaque catégorie de broyats. Le broyat est centrifugé à 11 000 tours (10 000 g) pendant 10 minutes. Le surnageant est réparti dans des cristallisoirs de 10 à 15 ml d'eau où séjournent 6 à 12 animaux soumis à l'expérience. La quantité d'extrait additionné à l'eau des cristallisoirs correspond à 18 à 30 têtes, régions pharyngiennes ou queues de planaires.

Les Planaires sont soumises à l'action des extraits pendant 12 à 20 jours<sup>1</sup>.

### A. PREMIÈRES SÉRIES EXPÉRIMENTALES

Animaux d'expérience: *Dugesia lugubris*.

Broyats centrifugés, non filtrés.

<sup>1</sup> Le détail de ces expériences sera donné dans un travail *in extenso* de C. ZILLER-SENGEL.

Des courbes 1 et 2 (fig. 7 et 8), il résulte que les 3 types d'extraits ont une action inhibitrice par rapport aux témoins, mais l'action inhibitrice est beaucoup plus forte dans le cas des extraits pharyngiens. Les différences sont les plus importantes entre le 10<sup>e</sup> et le 15<sup>e</sup> jour du traitement. Après quoi, les 3 courbes tendent à se rejoindre.

## Série ①

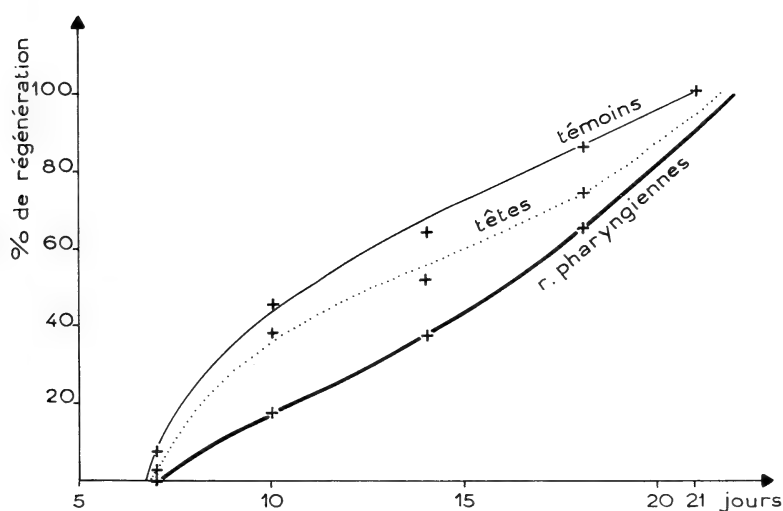
Dugesia lugubris

FIG. 7.

Régénération du pharynx en présence d'extraits non filtrés de têtes et de régions pharyngiennes.

Nombre total d'animaux en fin d'expérience :

- dans l'extrait de têtes, 62;
- dans l'extrait de régions pharyngiennes, 52;
- témoins, 45.

On peut attribuer une partie de l'action inhibitrice à un effet toxique commun aux trois extraits. Cependant le fait que l'extrait pharyngien, provenant d'une même quantité de tissus, est toujours plus inhibiteur que les extraits de tête ou de queues, tend à prouver que la région pharyngienne a une action inhibitrice spécifique.

Série (2)  
Dugesia lugubris

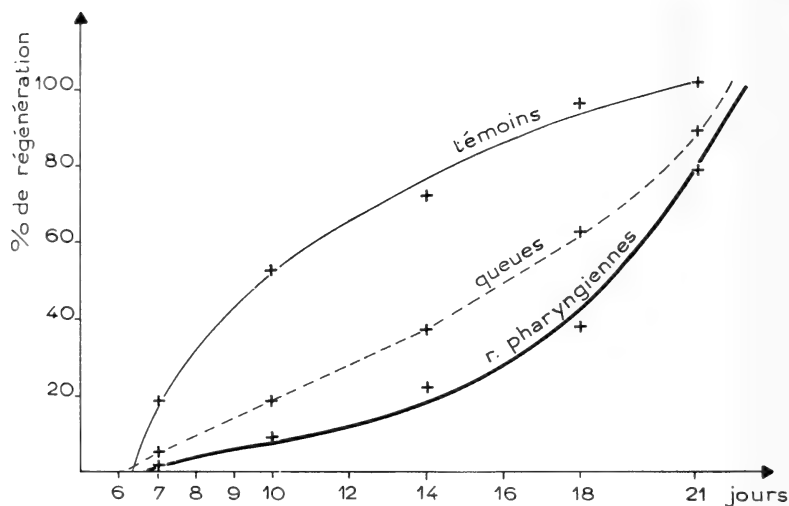


FIG. 8.

Régénération du pharynx en présence d'extraits non filtrés de queues et de régions pharyngiennes.

Nombre total d'animaux en fin d'expérience:

- dans l'extrait de queues, 88;
- dans l'extrait de régions pharyngiennes, 85;
- témoins, 70.

#### B. NOUVELLES SÉRIES EXPÉRIMENTALES (SÉRIES 3, 4 ET 5)

Afin d'éliminer l'effet toxique des solutions, dû principalement à des pullulations bactériennes, les extraits ont été filtrés sur filtres millipores à pores de  $0,45\ \mu$ , avant d'être ajoutés aux milieux. Les expériences ont été effectuées sur *Polycelis nigra* et sur *Dugesia tigrina*<sup>1</sup>.

La courbe de la fig. 9 donne les résultats obtenus avec *Polycelis nigra*, la courbe de la fig. 10, les résultats obtenus avec *Dugesia tigrina*.

<sup>1</sup> En raison d'une pénurie de planaires *Dugesia lugubris*.

Pour éprouver si l'action inhibitrice est due au pharynx en tant qu'organe ou à la zone pharyngienne qui le contient, on a soumis les animaux en expérience à deux extraits différents de zone pharyngienne: les extraits de régions pharyngiennes totales, les extraits

## Série (3)

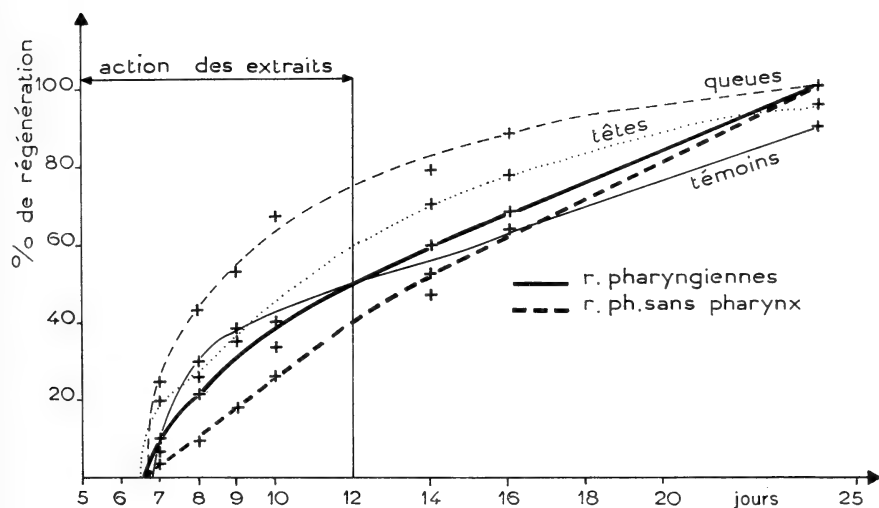
Polycelis nigra

FIG. 9.

Régénération du pharynx en présence d'extraits filtrés de têtes, de queues, de régions pharyngiennes totales et de régions pharyngiennes sans pharynx. Nombre total d'animaux en fin d'expérience:

- dans l'extrait de têtes, 22;
- dans l'extrait de queues, 26;
- dans l'extrait de régions pharyngiennes totales, 19;
- dans l'extrait de régions pharyngiennes sans pharynx, 22;
- témoins, 33.

de régions pharyngiennes sans pharynx. Ceux-ci sont plus actifs que ceux-là (fig. 9 et 10), ce qui semble indiquer que la substance inhibitrice n'est pas contenue dans le pharynx lui-même, mais dans les tissus qui l'avosinent. Des recherches nouvelles montreront si le pharynx proprement dit est ou n'est pas inhibiteur.

Ces séries expérimentales montrent un fait nouveau: c'est que les extraits de têtes et de queues ont une action stimulatrice par

rapport aux témoins. L'action inhibitrice des extraits pharyngiens totaux est diminuée dans le cas de *Polycelis nigra* (fig. 9), elle reste significative chez *Dugesia tigrina* (fig. 10). Mais l'extrait pharyngien n'a jamais aucun effet stimulateur. Dans les deux cas, en outre,

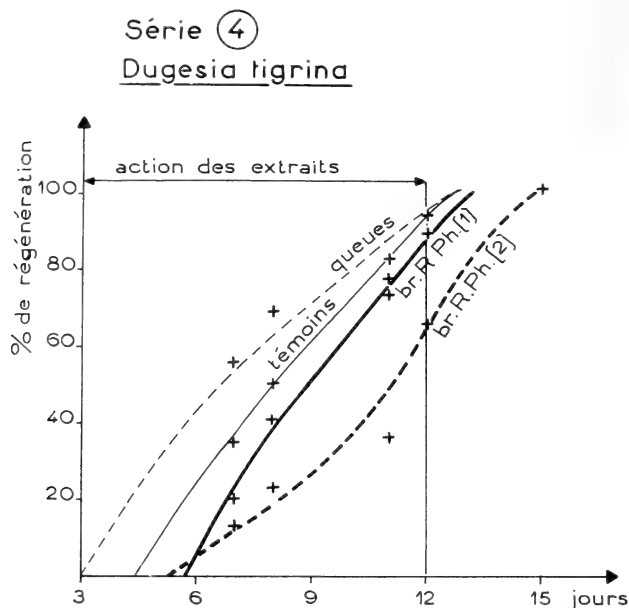


FIG. 10.

Régénération du pharynx en présence d'extraits filtrés de queues, de régions pharyngiennes totales et de régions pharyngiennes sans pharynx.

Nombre total d'animaux en fin d'expérience:

dans l'extrait de queues, 59; dans l'extrait de régions pharyngiennes totales, 59; dans l'extrait de régions pharyngiennes sans pharynx, 38; témoins, 57.

br. R. Ph. (1) = broyat de régions pharyngiennes totales;

br. R. Ph. (2) = broyat de régions pharyngiennes sans pharynx.

l'action *inhibitrice des extraits pharyngiens sans pharynx est très nette*.

On ne peut encore donner une interprétation décisive de ce phénomène. Des expériences sont en cours pour l'expliquer. En ce qui concerne l'effet accélérateur de certains extraits, on peut admettre qu'une substance stimulatrice, ou trophique, existe dans les extraits de tête et de queue. La même substance coexisterait avec une substance inhibitrice dans les extraits de zones pharyn-



giennes. L'effet inhibiteur dominerait nettement l'effet stimulateur dans les extraits de zones pharyngiennes.

L'action stimulatrice des extraits est du reste variable. Elle dépend très vraisemblablement de l'état de nutrition des planaires au moment de l'expérience. Une série nouvelle (série 5, fig. 11) faite avec des extraits de queue n'a plus montré d'effet stimulant;

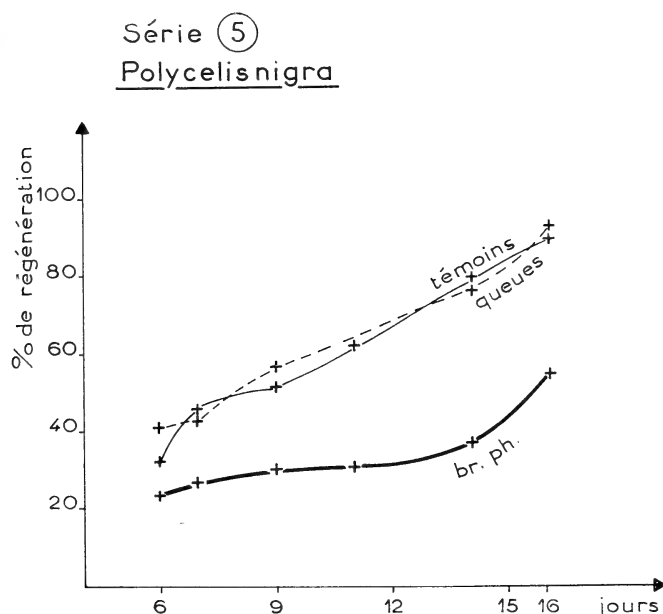


FIG. 11.

Régénération du pharynx en présence d'extraits filtrés de queues et de régions pharyngiennes sans pharynx.

Nombre total d'animaux en fin d'expérience:

- dans l'extrait de queues, 18;
- dans l'extrait de régions pharyngiennes sans pharynx, 33;
- témoins, 35.

br. ph. = broyat de régions pharyngiennes sans pharynx.

mais l'action inhibitrice des extraits de régions pharyngiennes est toujours énergique. Ce résultat tend à confirmer que l'effet stimulateur des extraits de tête et de queues de certaines séries est bien dû à un facteur trophique. Bien que toutes les expériences aient été faites sur des Planaires soumises au jeûne depuis 7 jours, le facteur stimulateur dépend vraisemblablement de l'état de la Planaire au moment de l'expérience.

Peut-on mettre en évidence d'autres actions inhibitrices relatives à d'autres régions des Planaires? Peu d'autres organes sont assez localisés ou assez importants pour se prêter facilement à des expériences. Des recherches sont entreprises dans notre laboratoire sur la régénération de l'appareil copulateur en présence d'extraits de cette région. D'autres pourront être effectuées sur l'appareil testiculaire, sur les yeux.<sup>1</sup>

Mais ces recherches présentent certaines difficultés techniques, qui ne sont pas entièrement surmontées.

### III. DISCUSSION ET CONCLUSIONS: UNE NOUVELLE INTERPRÉTATION DE LA THÉORIE DES GRADIENTS PHYSIOLOGIQUES DANS LA RÉGÉNÉRATION DES PLANAIRE

Lorsqu'une Planaire régénère un organe manquant, plusieurs conditions sont nécessaires pour que la reconstitution soit complète et normale.

1. L'existence de cellules de régénération (néoblastes), qui, dans les planaires à régénération totale, sont capables de régénérer n'importe quelle partie du corps. Les propriétés et les déplacements de ces cellules ont été étudiés dans notre laboratoire par F. DUBOIS (1949).

2. Des facteurs inducteurs, qui déterminent la qualité de la différenciation. Ces facteurs sont contenus dans les territoires voisins de l'organe à régénérer: cerveau pour les yeux (LENDER 1952); région prépharyngienne pour le pharynx (SANTOS 1929, OKADA et SUGINO 1937, Ph. SENDEL 1953, E. WOLFF, Ph. SENDEL et C. SENDEL 1958, C. SENDEL 1959); la région testiculaire pour l'appareil copulateur, (KENK 1941, OKUGAWA 1957 et FEDEKABRUNER (résultats inédits))...

Nous avons développé cette question dans d'autres travaux

---

<sup>1</sup> PENTZ et SEILERN ASPANG (1961) ont montré chez *Polycelis nigra* que la distance entre deux yeux voisins est constante. Dans cet intervalle on n'observe pas la formation de nouvelles taches oculaires. Si on écarte expérimentalement deux yeux voisins, de nouvelles formations oculaires se différencient. Donc chaque œil serait entouré d'un champ inhibiteur qui détermine l'écartement des yeux.

(1962a et b). Nous donnons ci-joint le schéma qui récapitule les inductions successives démontrées ou présumées dans le cas de la régénération de la région antérieure du corps (fig. 12 et 13a).

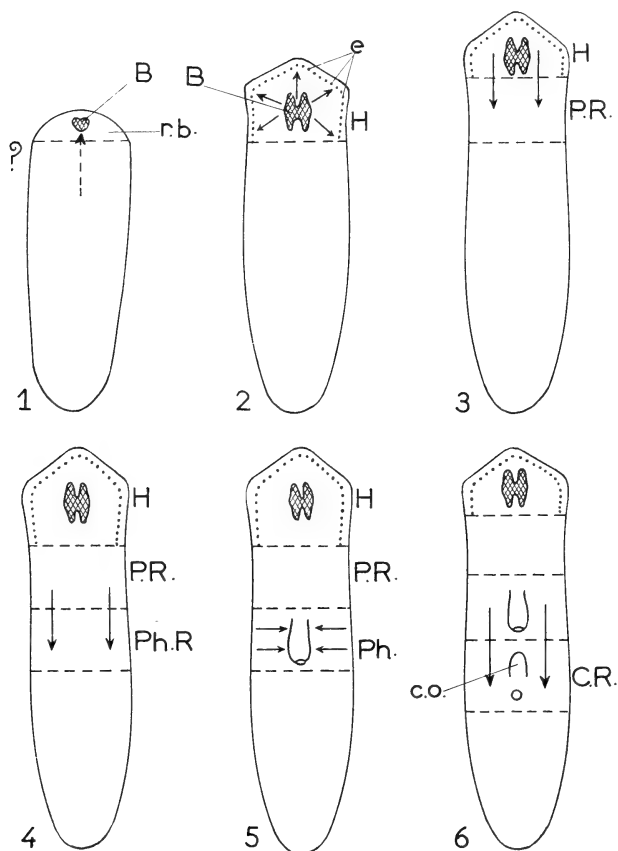


FIG. 12.

Représentation schématique des inductions successives qui interviennent au cours de la régénération antérieure du corps d'une Planaire (de type *Polycelis nigra*).

1. Induction du cerveau par la base;
2. Induction des yeux par le cerveau;
3. Induction de la région prépharyngienne par la tête;
4. Induction de la région pharyngienne par la région prépharyngienne;
5. Induction du pharynx par la zone pharyngienne;
6. Induction des organes copulateurs par les follicules testiculaires contenus dans la région antérieure.

B. = cerveau; c. o. = organes copulateurs; C.R. = région copulatrice;  
H. = tête; e = yeux; Ph. R. = région pharyngienne; Ph. = pharynx;  
P.R. = région prépharyngienne.  
(d'après Et. WOLFF 1962).

3. Des facteurs inhibiteurs qui, au moment où une mutilation est faite à l'organisme, empêchent généralement qu'un organe ou un appareil soit reconstitué en plusieurs exemplaires. Ce sont eux qui empêchent aussi que la régénération ne dépasse les besoins de la réparation. Ces facteurs jouent un rôle important quand on greffe

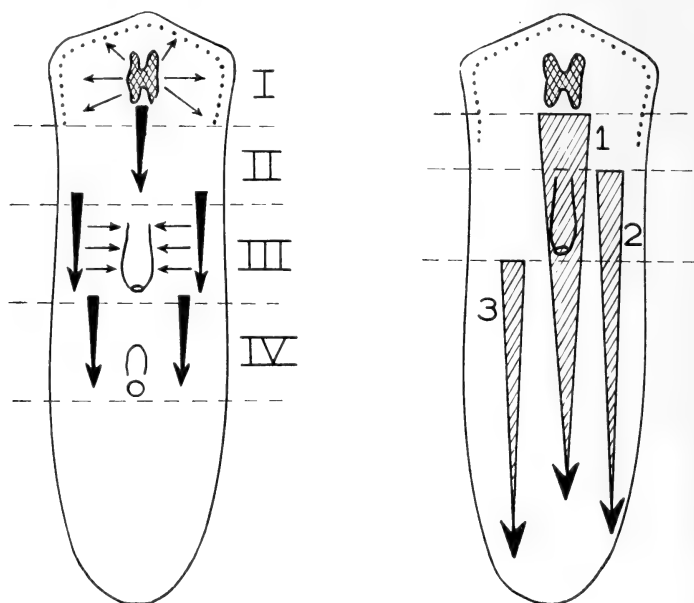


FIG. 13.

- a) Schéma récapitulatif des processus d'induction au cours de la régénération antérieure.  
 b) Schéma récapitulatif des processus d'inhibition présumés au cours de la régénération antérieure.  
 L'épaisseur des flèches indique l'intensité du gradient d'inhibition. (d'après Et. WOLFF, 1962).

une partie supplémentaire (tête, queue, région pharyngienne) à différents niveaux d'une planaire. Les actions inhibitrices se manifestent toutefois avec plus d'intensité dans les régions proches de l'organe régénéré; à une certaine distance, elles ne peuvent contrecarrer l'action des facteurs inducteurs. C'est ce qu'ont montré les expériences de dédoublement de têtes, de greffes de têtes ou de queues (CHEVTCHENKO 1937, SANTOS 1929).

Nous interprétons ces inhibitions comme résultant de l'action de substances élaborées au niveau de certains organes et diffusant

à travers le corps de la Planaire en quantités d'autant plus faibles qu'on s'éloigne de la région sécrétrice (fig. 13b). Nous avons mis en évidence de telles substances, en préparant des extraits à partir des têtes et des régions pharyngiennes. On peut considérer que les gradients d'inhibition établis par CHILD sont dus en grande partie

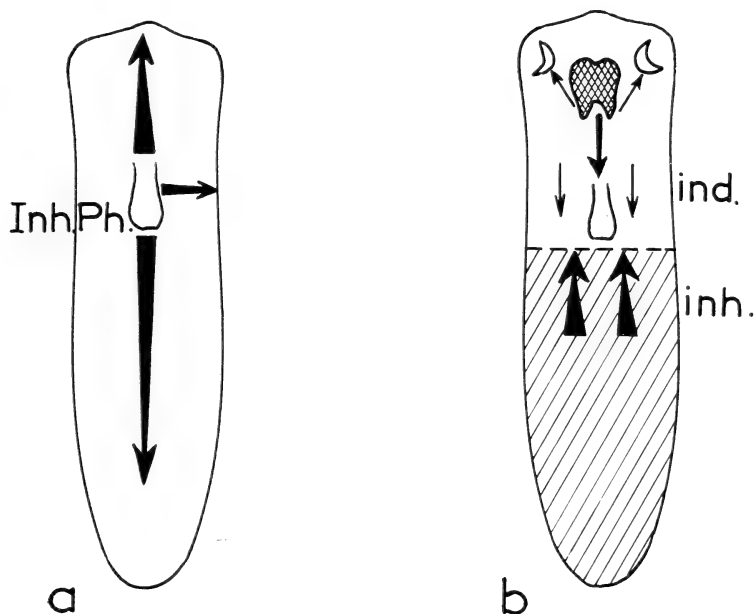


FIG. 14.

- a) Gradients de diffusion de substances inhibitrices à partir du pharynx. Inh. Ph. = inhibition du pharynx.
- b) Antagonisme entre les facteurs inducteurs et les facteurs inhibiteurs, au cours d'une régénération antérieure aux organes copulateurs. De l'équilibre entre ces facteurs résulte la reconstitution d'une planaire normale. ind. = facteurs inducteurs; inh. = facteurs inhibiteurs.

à la diffusion de substances inhibitrices qui sont plus ou moins diluées suivant la distance de la source (fig. 14a). Ainsi les gradients physiologiques seraient dus initialement à des gradients de diffusion de substances actives (WOLFF 1962, WOLFF et LENDER 1962). Les effets métaboliques, tels que gradients d'intensité respiratoire, de réduction, etc..., qui ont été étudiés par CHILD et ses collaborateurs ne seraient que des manifestations secondaires des réactions déclenchées par de telles substances.

La nature de ces substances reste entièrement à élucider. Il convenait dans un premier temps d'en démontrer l'existence. Nous pensons toutefois avoir apporté une contribution à la compréhension des mécanismes de la régénération et à la théorie si séduisante et si discutée de CHILD.

Remarquons enfin que le schéma et l'ordre des processus de la reconstitution réparatrice sont un peu différents des mécanismes généralement admis dans d'autres groupes animaux (par ex. chez les Amphibiens). Ces différences concernent le rôle de la partie restante (ou « base ») du corps. On admet généralement que celle-ci joue un rôle organisateur dans la différenciation du régénérat, sans que ce rôle ait d'ailleurs été nettement défini.

En ce qui concerne les Planaires, la base joue certainement un rôle primordial dans la détermination de la polarité du régénérat. C'est elle qui donne au régénérat sa qualité « antérieure » ou « postérieure ». Ce fait a été confirmé par l'un de nous (C. SENDEL 1960) dans les expériences de cultures de bourgeons de régénération. S'il s'agit d'un régénérat antérieur se reconstituant à partir d'une queue, le premier organe qui se différencie est le cerveau. On peut admettre que cette différenciation est induite par la base. Mais à partir de ce moment, la suite des processus de reconstitution est indépendante de la base. Ainsi que nous l'avons démontré dans des travaux antérieurs (voir plus haut p. 000), les inductions successives se font du cerveau vers la base, et c'est à l'intérieur même du régénérat que les facteurs inducteurs doivent être recherchés. Ainsi, la régénération se fait par appositions successives d'organes, de la région antérieure vers la région postérieure. La base intervient à nouveau pour mettre un terme à la morphogénèse régénératrice, en imposant un veto aux inductions qui tendraient à reproduire des parties déjà existantes. C'est à ce moment que les substances inhibitrices dont traite cet article jouent un rôle prépondérant, en contrecarrant la tendance à la reconstruction totale du régénérat. Le schéma de la fig. 14b représente l'équilibre qui s'établit entre les facteurs inducteurs et les facteurs inhibiteurs. En résumé, la « base » ne paraît jouer un rôle actif qu'au début et à la fin des processus de régénération: au début, en imposant au régénérat sa polarité et sa qualité; à la fin, en arrêtant les processus de régénération au moment où ils tendraient à dépasser leur but.

Nous proposons l'hypothèse de la formation et de la diffusion de substances inhibitrices comme une explication générale plausible des phénomènes de *dominance* et des gradients physiologiques au cours de la régénération des planaires. Cette hypothèse peut aussi s'appliquer à des processus du développement normal, dans lesquels des facteurs inhibiteurs s'opposent à l'expression des potentialités multiples de certaines ébauches embryonnaires.

Ces notions trouvent ainsi une explication concrète, fondée sur la concentration des substances inhibitrices, qui sont diffusées à partir d'un centre ou d'un territoire formateurs. Nous soulignons que, dans le cas des Planaires d'eau douce, l'existence de telles substances est démontrée dans le cas de deux des régions essentielles et les mieux caractérisées de l'organisme: la tête et la région pharyngienne. Elle est soupçonnée, mais non démontrée, dans le cas d'autres organes ou régions du corps. Bien qu'il soit difficile d'effectuer des expériences analogues sur des organes comme les yeux ou l'appareil copulateur, nous espérons que de nouvelles recherches viendront confirmer notre hypothèse.

Nous sommes conscients que certains faits connus paraissent ne pas entrer dans le cadre de la théorie. Nous en citerons deux exemples. Dans les expériences de SANTOS, reprises et complétées par OKADA et SUGINO, puis par Ph. SENDEL, un pharynx supplémentaire peut être induit dans la région caudale par la greffe d'une tête. Pourquoi la substance inhibitrice du pharynx n'agit-elle pas dans cette région? On peut admettre que, par l'effet du gradient de diffusion, la concentration de cette substance est trop faible dans cette zone pour s'opposer à l'action d'une puissante substance inductrice qui normalement n'existe pas à ce niveau.

D'autre part, la théorie peut paraître ne pas s'appliquer aux cas d'hétéromorphose, où une étroite zone, isolée par deux sections, peut régénérer une tête à ses deux extrémités. C'est encore ce qui se produit, lorsqu'une tête, sectionnée immédiatement en arrière des yeux, commence par régénérer des yeux au niveau de cette section, ou lorsque des substances chimiques, telles la déméclocine, provoquent une inversion de polarité au niveau d'une section postérieure. Ces exceptions apparentes peuvent s'expliquer par le fait qu'il n'y a pas encore de substance inhibitrice de tête dans le fragment (premier cas), qu'elle est contrariée par l'intensité des inductions dans un territoire compétent (deuxième cas) ou que sa

sécrétion est affaiblie par ces substances toxiques (troisième cas). Mais ce sont là des explications théoriques; elles montrent qu'on peut trouver une solution à des exceptions apparentes, mais elles n'ont de valeur que si elles sont démontrées expérimentalement.

Nous pensons que notre hypothèse peut cependant donner une explication valable de la plupart des faits connus, qu'elle pourra être confirmée par de nouvelles recherches sur les Planaires et étendue à d'autres organismes. Nous devons souligner que, dès maintenant, elle est appuyée par d'importantes recherches de ROSE et de ses collaborateurs sur la régénération des Tubulaires (1955, 1957) des Némertes et des Annélides Polychètes (résultats inédits), et par les travaux de divers auteurs (ROSE 1955 et LÉNIQUE 1961) sur l'influence inhibitrice d'extraits d'organes sur le développement des ébauches correspondantes, au cours du développement des Vertébrés.

## RÉSUMÉ

1. L'effet inhibiteur d'extraits d'organes au cours de la régénération de Planaires d'eau douce (*Dugesia lugubris*, *Polycelis nigra*, *Dugesia tigrina*) a été démontré dans le cas de deux régions du corps: la tête et la région pharyngienne.

2. Des greffes de cerveau ou des extraits de tête empêchent ou retardent la reconstitution du cerveau dans un régénérat antérieur de tête (fig. 1 et 3). Le liquide surnageant des extraits centrifugés a le même effet inhibiteur que l'extrait total. Les extraits de queue n'ont aucune action retardatrice sur la régénération de la tête.

3. Le surnageant d'extraits de régions pharyngiennes exerce une inhibition spécifique sur la régénération du pharynx, après extirpation de cet organe (fig. 10 et 11). Ni les extraits de tête, ni les extraits de queue n'ont d'action inhibitrice spécifique sur la régénération du pharynx; ils ont au contraire, dans certaines expériences, une action accélératrice sur ce processus (fig. 9 et 10).

4. Les auteurs formulent l'hypothèse que des substances inhibitrices spécifiques, émanées d'un organe ou d'une région, empêchent que cet organe ou cette région puisse être édifié plusieurs fois, au cours des processus de régénération. Ce sont elles qui limitent la régénération à la reconstitution de la partie manquante.



5. La régénération des parties manquantes d'une Planaire est due à une série d'inductions et d'inhibitions (fig. 13 et 14a), entre lesquelles s'établit un équilibre. Dans le cas de la régénération antérieure, une succession d'inductions en chaîne se produit d'abord en direction céphalo-caudale (cerveau, yeux, région prépharyngienne, pharynx, appareil copulateur) (fig. 13a). Elle s'arrête sous l'influence de facteurs antagonistes émanés de la partie restante et dirigés en sens inverse (fig. 14b).

6. La théorie des gradients axiaux et la notion de dominance (CHILD) peuvent être expliqués par la diffusion de substances inhibitrices spécifiques à partir d'un centre où elles ont leur concentration maximum, vers les régions éloignées où leur concentration est minimum (fig. 14a).

### ZUSAMMENFASSUNG

1. Es wurde die Hemmwirkung von Extrakten der Kopf- und Pharynxregion auf die Regeneration bei Süßwasserplanarien (*Dugesia lugubris*, *Polycelis nigra*, *Dugesia tigrina*) nachgewiesen.

2. Verpflanzung von Gehirn oder Extrakte der Kopfregion unterdrücken oder verzögern die Regeneration eines Gehirns in einem vorderen Kopfblastem (Abb. 1 und 3). Der Ueberstand von zentrifugierten Extrakten zeigt die gleiche Wirkung wie Total-extrakt. Schwanzextrakte verzögern die Kopfregeneration nicht.

3. Der Ueberstand von Extrakten der Pharynxregion hemmt die Regeneration der Pharynxregion nach deren Entfernung spezifisch (Abb. 10 und 11). Weder Kopf- noch Schwanzextrakte zeigen eine solche spezifische Hemmwirkung auf die Pharynxregeneration; einzelne Experimente ergaben im Gegenteil eine gewisse Förderung dieses Prozesses (Abb. 9 und 10).

4. Die Verff. entwickeln folgende Hypothese: spezifische Hemmstoffe werden in regenerierenden Organen oder Körperteilen gebildet und verhindern, dass gleiche Organe bzw. Körperteile mehrmals regeneriert werden. Auf diese Weise bleibt der Regenerationsprozess auf die fehlenden Teile beschränkt.

5. Die Regeneration fehlender Körperteile bei Planarien beruht auf einer balancierten Folge von Induktions- und Hemmwirkungen

(Abb. 13 und 14). Im Falle der Regeneration des Vorderkörpers wird vermutet, dass eine Folge von Induktionswirkungen, vom Kopf zum Schwanz (Gehirn, Augen, Pharynxregion, Pharynx, Copulationsorgan) abläuft; diese werden gesteuert durch antagonistisch wirkende Faktoren, welche in den verbleibenden Körperteilen vorhanden sind und eine entgegengesetzte Wirkung entfalten (Abb. 14b).

6. Die Theorie der Axialgradienten (*Child*) lässt sich erklären durch die Annahme von spezifischen Hemmstoffen, deren Konzentration von einem Zentrum aus allmählich abnimmt (Abb. 14a).

## SUMMARY

1. The inhibitory effect of organ extracts during the regeneration of fresh water planarians (*Dugesia lugubris*, *Polycelis nigra*, *Dugesia tigrina*) has been demonstrated for two regions of the body: the head and the pharyngeal region.

2. Graft of brain, or head extracts prevent or delay the regeneration of the brain in an anterior head blastema (fig. 1 and 3). The supernatant of the centrifuged extracts has the same effect as the whole extract. The tail extracts do not delay the regeneration of the head.

3. The supernatant of extracts of the pharyngeal region has a specific inhibitory effect on the regeneration of the pharynx, after this organ has been excised (fig. 10 and 11). Neither the head extracts, nor the tail extracts have such specific inhibitory action on the regeneration of the pharynx; on the contrary, in some experiments, they have an entrancing action on this process (fig. 9 and 10).

4. The authors formulate following hypothesis: specific inhibitory substances are produced by a regenerating organ or region, and prevent this organ or this region from being regenerated several times. Thus the regeneration is restricted to the reconstruction of the missing part.

5. The regeneration of the missing parts of a planarian results from a balanced succession of inductions and inhibitions (fig. 13 and 14). In the case of the anterior regeneration, a sequence of

inductions proceeding from the head towards the tail (brain, eyes, pharyngeal region, pharynx, copulatory apparatus) (fig. 13a) is controlled by antagonistic factors which are present in the remaining part and which act in the opposite direction (fig. 14b).

6. The theory of axial gradients (Child) and the concept of dominance can be explained by the presence of specific inhibitory substances which diffuse from a center where their concentration is maximum, to distant regions where their concentration is minimum (fig. 14a).

### BIBLIOGRAPHIE

- CHEVTCHENKO, N. N. 1937. *Die Wechselwirkung von Teilen von verschiedener physiologischer Aktivität bei Planarien*. Biol. Z. 6: 581-587.
- CHILD, C. M. 1920. *Some consideration concerning the nature and origin of physiological gradients*. Biol. Bull. 39: 147-187.
- DALCQ, A. et PASTEELS, J. 1938. *Potentiel morphogénétique, régulation et « axial gradients » de Child. Mise au point des bases physiologiques de la morphogénèse*. Bull. Acad. Roy. Méd. Belg. 6<sup>e</sup> série, 3: 261-308.
- DUBOIS, F. 1949. *Contribution à l'étude de la migration des cellules de régénération chez les Planaires dulcicoles*. Bull. Biol. Fr. Belg. 83: 215-284.
- KENK, R. 1941. *Induction of sexuality in the asexual form of Dugesia tigrina (Girard)*. J. exp. Zool. 87: 55-69.
- LENDER, Th. 1952. *Le rôle inducteur du cerveau dans la régénération des yeux d'une Planaire d'eau douce*. Bull. Biol. Fr. Belg. 86: 140-215.
- 1955. *Sur l'inhibition de la régénération du cerveau de la Planaire Polycelis nigra*. C.R. Acad. Sc. 241: 1863-1865.
- 1956. *L'inhibition de la régénération du cerveau des Planaires Polycelis nigra (Ehrb.) et Dugesia lugubris (O. Schm.) en présence de broyats de têtes ou de queues*. Bull. Soc. Zool. Fr. 81: 192-199.
- 1960. *L'inhibition spécifique de la différenciation du cerveau des Planaires d'eau douce en régénération*. J. Embryol. exp. Morph. 8: 291-301.
- MILLER, J. A. 1938. *Studies on heteroplastic transplantation in triclad s*. I. *Cephalic grafts between Euplanaria dorocephala et E. tigrina*. Physiol. Zool. 11: 214-248.
- OKADA, Y. K. et SUGINO, H. 1937. *Transplantation experiments in Planaria gonocephala Dugès*. Jap. Journ. Zool. 7: 373-439.

- OKUGAWA, K. I. 1957. *An experimental study of sexual induction in the asexual form of japanese fresh-water planarian, Dugesia gonocephala Dugès*. Bull. Kyoto Gakugei Univ. Sér. B, 11: 8-27.
- PENTZ, S. et SEILERN-ASPANG, F. 1961. *Die Entstehung des Augenmusters bei Polycelis nigra durch Wechselwirkung zwischen dem Augenhemmfeld und der Augeninduktion durch das Gehirn*. Roux' Arch. f. Entw. Mech. T. 153, pp. 75-92.
- RAND, H. W. and BROWNE, A. 1926. *Inhibition of regeneration in planarians by grafting; technique of grafting*. Proc. Nat. Acad. Sc. Wash. 12: 575-581.
- ROSE, S. M. 1955. *Specific inhibition during differentiation*. Ann. N.Y. Acad. of Sci. 60: 1136-1159.
- 1957. *Cellular interaction during differentiation*. Biol. Reviews. 32: 351-382.
- 1957. *Polarized inhibitory effects during regeneration in Tubularia*. J. Morph. 100: 187-206.
- and ROSE, Fl. C. 1961. *Growth-Controlling exudates of tadpoles*. Symposia of the Sty. for exp. Biology. XV. Mechanisms in Biological Competition. 207-218.
- SANTOS, F. V. 1929. *Studies on transplantations in Planaria*. Biol. Bull. 57: 188-198.
- SENGEL, C. 1959. *La région caudale d'une Planaire est-elle capable d'induire la régénération d'un pharynx ?* J. Embryol. exp. Morph. 7: 73-85.
- 1960. *Culture in vitro de blastèmes de régénération de Planaires*. J. Embryol. exp. Morph. 8: 468-476.
- SENGEL, Ph. 1953. *Sur l'induction d'une zone pharyngienne chez la Planaire d'eau douce Dugesia lugubris O. Schm.* Arch. Anat. micr. Morph. exp. 42: 57-66.
- TOIVONEN, S. und SAXEN L. 1955. *Über die Induktion des Neuralrohrs bei Triturus-Keimen als simultane Leistung des Leber- und Knochenmarkgewebes vom Meerschweinchen*. Ann. Acad. Sci. Fenn. A. IV Biologica, 30: 1-30.
- WOLFF, Et. 1962. *Recent researches on the regeneration of Planaria*. In « Regeneration » 20th Growth Symposium, The Ronald Press Company, 53-84.
- et LENDER, Th. 1962. *Les néoblastes et les phénomènes d'induction et d'inhibition dans la régénération des Planaires*. Ann. biol. 1: 499-529.
- SENGEL, Ph. et SENGEL, C. 1958. *La région caudale d'une Planaire est-elle capable d'induire la régénération d'un pharynx ?* C.R. Acad. Sc. 246: 1744-1746.
- YAMADA, T. 1958. *Embryonic induction*. In « A Symposium on the Chemical Basis of Development », W. McElroy and B. Glass eds. 217-238.

# Bedeutungseigene und bedeutungsfremde Entwicklungsleistungen proliferierender Primordien von *Drosophila* nach Dauer- kultur in vivo

von

**Ernst HADORN**

Zoologisch-vergl. anatomisches Institut der Universität Zürich \*

Mit 6 Textabbildungen.

*Meinem verehrten Lehrer, Herrn  
Prof. Dr. F. Baltzer, in Dankbarkeit  
zum 80. Geburtstag gewidmet.*

Wie bereits kurz mitgeteilt wurde, gelingt es, Teilstücke larvaler Imaginalscheiben von *Drosophila melanogaster* im Abdomen adulter Fliegen zu kultivieren und zum regenerativen Wachstum zu bringen (HADORN 1963). Dabei bleibt der larvale Zustand dauernd erhalten. Werden Fragmente solcher Zellverbände in Larven rücktransplantiert, so können sie gemeinsam mit dem Wirtsorganismus die Metamorphose durchführen und sich zu normalen Adultstrukturen ausdifferenzieren. Erstaunlicherweise entstehen dabei neben jenen Körperbereichen, für die das larvale Blastem ursprünglich bestimmt ist, auch „bedeutungsfremde“ Bildungen, die dem Differenzierungsinventar ganz anderer Imaginalscheiben angehören. So konnten wir zeigen, dass die proliferierenden Zellen

---

\* Ausgeführt und herausgegeben mit Unterstützung der Georges und Antoine Claraz-Schenkung.

der männlichen Genitalscheibe u. a. Kopfteile, wie völlig normale Antennen liefern (HADORN 1963). Andererseits sind die Augen-Antennenscheiben unter den Bedingungen unserer Versuchsanordnung fähig, die Differenzierung von Flügelteilen zu vollenden (SCHLÄPFER 1963).

In der vorliegenden Arbeit berichte ich über den gegenwärtigen Stand der Kulturen, sowie über einige Befunde und Erfahrungen, wie sie sich nun nach einer nahezu einjährigen Versuchsdauer ergeben. Über den Determinationszustand, den Anlageplan, sowie die normalen bedeutungseigenen Leistungen der für die vorliegenden Hauptversuche verwendeten männlichen Genital-Imaginalscheibe geben frühere Arbeiten Auskunft (HADORN und GLOOR 1946, HADORN, BERTANI und GALLERA 1949, URSPRUNG 1959). Dort finden sich auch genauere Beschreibungen der Einzelelemente des inneren und äusseren Geschlechtsapparates von *Drosophila melanogaster*.

#### 1. ZUR METHODIK (vergl. Abb. 2 bei HADORN 1963).

Die männliche Genital-Imaginalscheibe wird aus einer verpuppungsreifen Larve herausseziert und median halbiert (Abb. 1, oben). Die Teilstücke injizieren wir in das Abdomen einer frisch geschlüpften weiblichen Fliege. Nach 1—2 Wochen „Kulturdauer in vivo“ werden die Implantate wieder frei präpariert. Das eine Stück implantieren wir nun in eine Larve des 3. Stadiums und schicken es mit dem neuen Wirt durch die Metamorphose. Das andere Stück wird wiederum halbiert, und die Fragmente implantieren wir zur erneuten Regeneration je in einen weiteren Adultwirt. Nach 8—14 Tagen prüfen wir wieder im Metamorphosetest die Differenzierungsleistungen des einen Teilstückes, während der Partner nach Aufteilung dazu bestimmt ist, in adulten Wirten den Zellstamm weiterzuführen. In weiteren „Transfergenerationen“ proliferieren viele Implantate so stark, dass es leicht wird, zunehmend mehr Fragmente zu gewinnen. So lassen sich Unterlinien = Subkulturen abzweigen.

Die Abb. 1 gibt Aufschluss über die Nachkommenschaft einer einzigen männlichen Imaginalscheibe (Mg. 9), deren Zellen wir nun während 11 Monaten durch fortgesetztes Übertragen auf je neue Wirte (Transfer I—XXIX) kultiviert haben. Da im Verlaufe

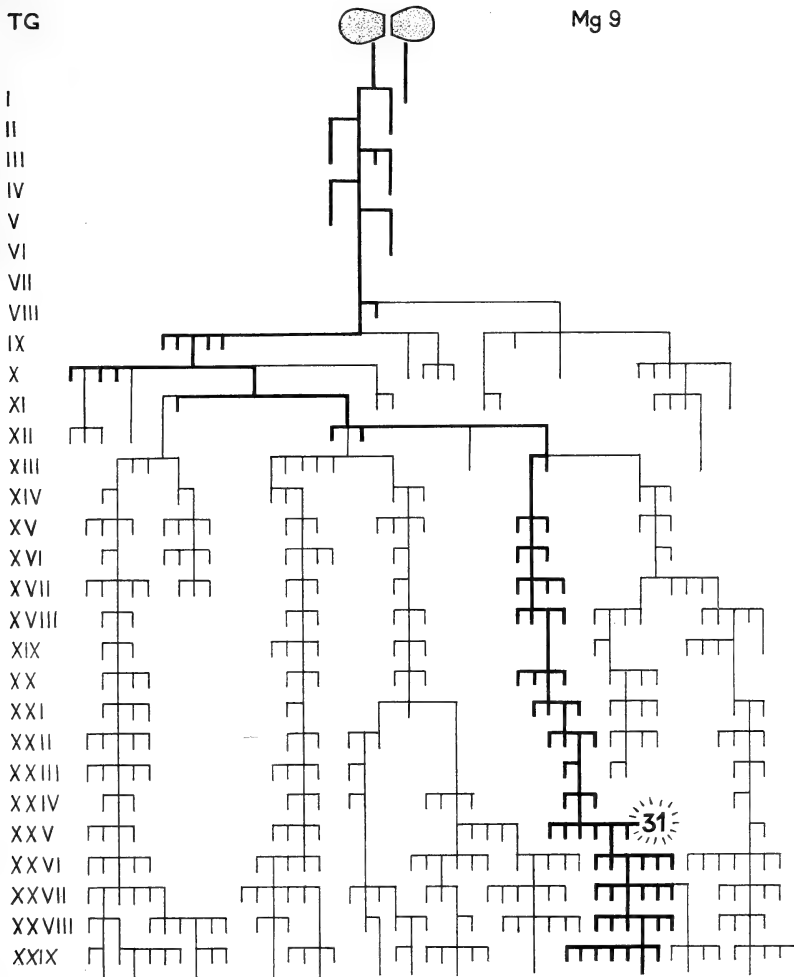


ABB. 1.

Genealogie der Nachkommenschaft einer einzelnen männlichen Genitalscheibe (oben, Mg 9), die während 11 Monaten über XXIX Transfergenerationen verfolgt wurde. Die blind endigenden senkrechten Teilstücke bezeichnen je ein metamorphosiertes und untersuchtes Implantat. Die in Adultwirten in Dauerkultur geführten Zellstämme sind durch ununterbrochene Linien charakterisiert. Stark ausgezogen ist eine Subkultur, über deren Differenzierungsleistungen die Tab. 1 (linke Hälfte) Aufschluss gibt.

von zwei Wochen die kleinen implantierten Blastemstücke bis auf das Fünzigfache an Masse zunehmen können, wobei sie die Grösse eines vollausgereiften Ovars übertreffen, führen wir nur

relativ kleine Proben von 2—3 Fragmenten je einzeln in Adultwirtin weiter. Zur Prüfung der imaginalen Differenzierungsleistungen beschränken wir uns meist auch auf 3—6 Implantate, die auf ebenso viele Larven verteilt werden und zur Metamorphose bestimmt sind. Da die operativ bedingte Sterblichkeit der Larven bedeutend grösser ist als diejenige der Fliegenwirte, gibt es Transfergenerationen, für die wir nur eine oder überhaupt keine metamorphosierte Probe untersuchen konnten (Tab. 1). Gelegentlich wurde auch versucht, alle Zellen eines stark proliferierenden Implantats zu prüfen. Dabei wird das Proliferat in annähernd gleichgrosse Fragmente aufgeteilt. Die Differenzierungen der Einzelstücke geben dann Auskunft über die Topographie im Anlagemosaik der Kultur. Ein solcher „Schachbrett-Test“ ist in der Abb. 1 für den XXV. Transfer angegeben (siehe „31“). Hier konnte das aus der Fliege herauspräparierte Proliferat in 41 Teilstücke zerlegt werden, davon entwickelten sich 31 larvale Implantatsträger über die Metamorphose hinaus.

Alle metamorphosierten Implantate wurden zu Totalpräparaten verarbeitet, wobei wir Stücke, die viel Weichteile enthalten, nach GOMORI färbten, während die vornehmlich chitinierten Implantate direkt in FAURE'sche Lösung eingeschlossen wurden.

## 2. DAS GESAMTMATERIAL

Bis zum Abschluss dieser Mitteilung (Ende September 1963) wurden Zellen aus 6 männlichen Genitalscheiben in 29 Transfergenerationen weitergeführt. Dabei lieferten diese verschiedenen Stämme je eine Anzahl von Unterlinien. Aus Abb. 1 unten ist ersichtlich, dass z.B. von der Stammlinie Mg 9 nun 12 solche Subkulturen zur XXX. „Generation“ überleiten. Darunter gibt es Zellfolgen, die schon beim X. Transfer getrennt wurden, während andere Abzweigungen jüngeren Datums sind. Einzelne Linien starben aus. Solche Abbrüche sind teils operativ bedingt, teils aber konnte eine Subkultur auch deshalb nicht weitergeführt werden, weil die Proliferation aus noch ungeklärten Ursachen ungenügend wurde.

Aus den 6 Originalstämmen mit ihren rund 40 heute lebenden Subkulturen konnten wir gegen 1000 erfolgreich metamorphosierende Implantate abzweigen und untersuchen. Trotzdem uns ein



so grosses Material zur Verfügung steht, müssen viele Fragen zur Zeit noch offen bleiben. Wir beschränken uns daher nachfolgend auf die Darstellung einiger Beispiele von möglichen Differenzierungsleistungen.

### 3. ZWEI CHARAKTERISTISCH VERSCHIEDENE LINIEN

In der Tab. 1 (links) geben wir für die in Abb. 1 stark ausgezogene Subkultur von Mg 9 übersichtsweise an, was die einzelnen Implantate an imaginalen Differenzierungen geliefert haben.

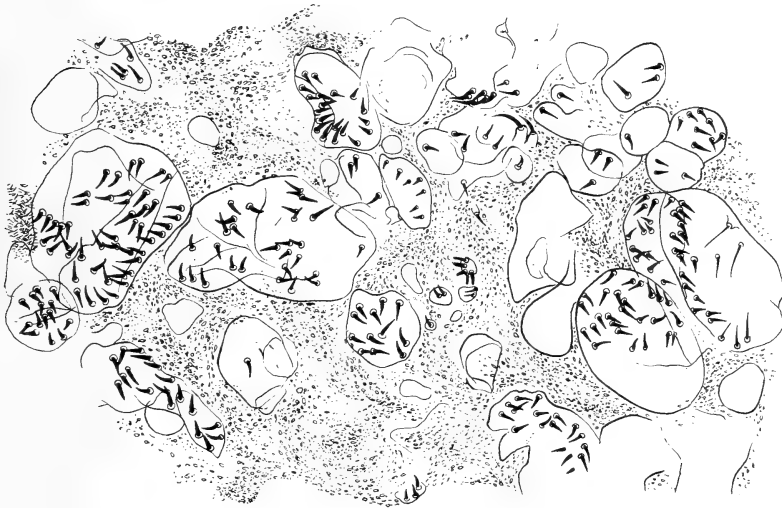


ABB. 2.

Anschnitt aus dem Implantat Mg XX 9a 12 zeigt zahlreiche Bläschen mit Clasperdornen, dazwischen Weichteile vom Typus des Ductus ejaculatorius. Vergr. 105  $\times$ .

Typisch für diese Zellfolge ist eine im Adultwirt mit der IX. Generation sehr stark einsetzende Mitoseaktivität. Dabei werden vor allem die Weichteile des inneren Geschlechtsapparates, wie Ductus ejaculatorius, Paragonien und Samenpumpenwände ausgiebig vermehrt. Ausserdem erscheinen weitere epithelartige Zellverbände, deren Zuordnung zu bestimmten Teilen des Genitalapparates nicht klar ist.

TABELLE 1.

*Differenzierungsleistungen von je einer Subkultur aus den beiden männlichen Genitalscheiben Mg 9 und Mg 3. Genealogie einer Linie von Mg 9 in Abb. 1 stark ausgezogen.*

TG = I.—XXIX. Transfergeneration. n = Zahl der untersuchten Implantate. Bedeutungseigene Differenzierungen: W = Weichteile, exklusive Enddarm; P = Penisapparat; C = Clasper; A = Analplatte. Bedeutungs fremde Differenzierungen: K = Kopfstrukturen; B = Beinteile; F = Flügel. Für jede „Generation“ ist die Zahl der Implantate angegeben, welche die betreffende Struktur geliefert haben.

TG	Mg 9								Mg 3							
	n	W	P	C	A	K	B	F	n	W	P	C	A	K	B	F
I	1	1	1	1	—	—	—	—	1	1	1	1	1	—	—	—
II	1	—	1	1	1	—	—	—	1	1	1	1	1	1	—	—
III	2	1	1	1	1	1	—	—	1	1	1	1	1	—	—	—
IV	1	—	1	1	1	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—	—
V	1	—	1	1	1	—	—	—	0	—	—	—	—	—	—	—
VI	1	1	1	1	—	—	—	—	3	1	—	—	3	3	2	—
VII	0	—	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	1	—	—
VIII	1	1	1	1	—	—	—	—	0	—	—	—	—	—	—	—
IX	4	4	1	1	1	—	—	—	0	—	—	—	—	—	—	—
X	3	3	—	1	1	—	—	—	0	—	—	—	—	—	—	—
XI	1	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1	—	1	—
XII	2	2	2	2	1	1	—	—	1	—	—	—	1	1	1	—
XIII	1	1	1	1	1	—	—	—	1	—	—	—	1	1	—	—
XIV	0	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	1	1	—	—
XV	2	2	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	2	2	1	—
XVI	2	2	—	1	—	1	—	—	2	—	—	—	2	2	1	1
XVII	3	3	2	2	—	1	—	1	2	—	—	—	2	1	2	—
XVIII	3	3	—	2	—	—	—	—	2	—	—	—	1	2	1	—
XIX	0	—	—	—	—	—	—	—	11	—	—	—	2	10	9	4
XX	3	3	3	3	2	—	—	1	2	—	—	—	2	2	1	—
XXI	3	3	—	—	3	—	—	—	10	—	—	—	10	9	8	2
XXII	3	3	—	—	3	—	—	—	2	—	—	—	1	2	1	—
XXIII	1	1	—	—	1	—	—	—	2	—	—	—	2	2	1	—
XXIV	2	2	—	—	2	—	—	—	2	—	—	—	2	1	—	—
XXV	36	36	—	—	35	6	—	7	1	—	—	—	1	1	—	—
XXVI	5	5	—	—	4	—	—	2	1	—	—	—	1	1	1	—
XXVII	5	5	—	—	5	1	—	4	1	—	—	—	1	1	—	—
XXVIII	5	5	—	—	4	1	—	1	3	—	—	—	3	2	2	1
XXIX	6	6	—	—	6	4	—	5	1	—	—	—	1	1	—	—

Die bedeutungseigenen Weichteile treten bis zur XXIX. Generation fast ausnahmslos in allen Testimplantaten auf. Von den Hartgebilden des äusseren Geschlechtsapparates halten sich recht lange die Penisteile (P) sowie die Claspers (C), deren Primordien sich teils ausserordentlich stark vermehren konnten. So zählen

wir in einzelnen metamorphosierten Implantaten bis zu 30 Clasperblasen (Abb. 2). Von Generation XXI an verschwinden dann allerdings in unserer Sublinie die Claspers. Ein solcher Ausfall beruht nicht auf einem alters- oder kulturbedingten Kompetenzverlust; denn in anderen Linien werden Claspers bis zur XXIX Generation gebildet. Es ist vielmehr anzunehmen, dass in derjenigen Probe, die zur Weiterzucht verwendet wurde, nur zufällig die Clasperqualitäten gefehlt haben. Ob sich später in dieser Kultur doch wieder Claspers einstellen können, wissen wir noch nicht.

Die Analplatten (A) sind bedeutungseigene Differenzierungen, die in vielen Linien dauernd erhalten bleiben. Wenn sie in den Implantaten I, VI, VIII und XI fehlen, so könnte dies wiederum darauf beruhen, dass das Analplattenblastem infolge zufällig ungünstiger Schnittführung der zur Metamorphose bestimmten Probe nicht zugeteilt wurde. Anders zu beurteilen ist der Ausfall von XV—XVIII (Tab. 1). Hier besitzen wir Informationen aus immerhin 10 grösseren Implantaten. Es scheint daher festzustehen, dass in einer Linie die Ausbildung von Analplatten während längerer Zeit verschwinden kann, dass aber später diese Strukturen wieder auftreten können. Tatsächlich finden wir in der hier berücksichtigten Linie ab XX die Analplatten wieder regelmässig. So fehlen sie bei keinem der 31 Implantate des Schachbrett-Versuchs in XXV. Andere Linien bestätigen den Befund, wonach Analplatten nach einem längeren transitorischen Ausfall erneut erscheinen können.

Unsere Linie — und dies gilt für alle Abkömmlinge der Scheibe Mg 9 — liefert nur relativ wenig bedeutungsfremde Strukturen. Zunächst erscheinen nur sporadisch einzelne Kopfteile (K in III, XII, XVI, XVII). Auch später bleiben diese Differenzierungen selten; sie finden sich z.B. in XXV nur bei 6 von 36 Implantaten. Erst im Material des letzten Transfers (XXIX) werden Kopforgane mit grösserer Häufigkeit festgestellt. Für Flügelteile (F) ergeben sich durchaus ähnliche Befunde wie für Kopfteile. Die Tatsache, dass Flügel allerdings erst ab XVII zu finden sind, könnte erst unter Berücksichtigung des Gesamtmaterials bewertet werden. Beinbildungen (B) wurden in der vorliegenden Subkultur nie beobachtet.

Die zweite in Tabelle 1 (rechts) charakterisierte Linie unterscheidet sich leistungsmässig wesentlich von der eben besprochenen

Subkultur aus Mg 9. Zwar liefern die Abkömmlinge von Mg 3 zunächst ebenfalls alle Teile des männlichen Geschlechtsapparates. Recht bald aber verschwinden jene Elemente des Genitalapparates vollständig und endgültig, die aus zentral in der Scheibe lokalisierten Feldbereichen hervorgehen (vergl. den Anlageplan bei HADORN, BERTANI u. GALLERA 1946, sowie bei URSPRUNG 1959). Neben den Weichteilen des Ductus ejaculatorius und den Paragonien fehlen dann auch die Penisteile und die Claspers. Von den bedeutungseigenen Strukturen bleiben lediglich die Analplatten (A), sowie die Borstenfelder des Genitalbogens und seiner Umgebung erhalten. Analplatten treten fast überall in allen Implantaten auf. Einzig in den Proben des XIX. Transfers fehlen sie häufig. Die Analplatten sind in der Mehrzahl der Implantate von Partien des terminalen Enddarmes begleitet. Offenbar liegen in der Genitalscheibe die beiden Blasteme sehr nahe beieinander.

Der Unterschied zwischen Mg 9 und Mg 3 ist sehr wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass in der Frühgeschichte der Linien, da noch relativ kleine Implantate aufgeteilt werden mussten, die zentralen Primordien der Genitalscheibe zufällig für Mg 3 nicht als „Stammhalter“ verwendet wurden, während bei Mg 9 die Zuteilung von Analplattenblastem ungenügend war.

Im Gegensatz zu Mg 9 liefert Mg 3 mit viel grösserer Regelmässigkeit zahlreiche bedeutungsfremde Strukturen. Dabei entstehen nicht nur Kopfteile (K, Abb. 6) und Flügel (F, Abb. 5), sondern sehr häufig auch Beinpartien (B, Abb. 5, sowie T in Abb. 6). In einzelnen metamorphosierten Stichproben finden wir überhaupt keine Genitalstrukturen mehr. So lieferten von den 11 Implantaten in XIX deren 9 lediglich rein bedeutungsfremde Differenzierungen. Ein entsprechender Fall aus einer anderen Linie, der nur Kopfteile ausdifferenziert hat, ist in Abb. 3 dargestellt. Wir wissen zur Zeit noch nicht, ob es gelingen wird, eine Subkultur abzuzweigen, die dauernd und ohne Rückschläge nur noch bedeutungsfremde Strukturen liefern wird.

Die beiden hier besprochenen Subkulturen geben die ausserordentlich variantenreiche Mannigfaltigkeit, wie sie sich im Gesamtmaterial äussert nur unvollkommen wieder. Immerhin sind sie charakteristisch für zwei Haupttypen. Bei den Nachkommen von 2 Ausgangsscheiben (Mg 9 und Mg 12) proliferieren vornehmlich und sehr ausgiebig die Zentralia der ursprünglichen Anlage. Bedeu-

tungsfremde Leistungen treten hier nicht regelmässig und auch nicht in allen Subkulturen auf. Beim zweiten Typus, vertreten durch 4 Hauptlinien (Mg 3, Mg 17, Mg 30 und Mg 31), werden die bedeutungseigenen Leistungen frühzeitig auf Analplatten und Enddarm

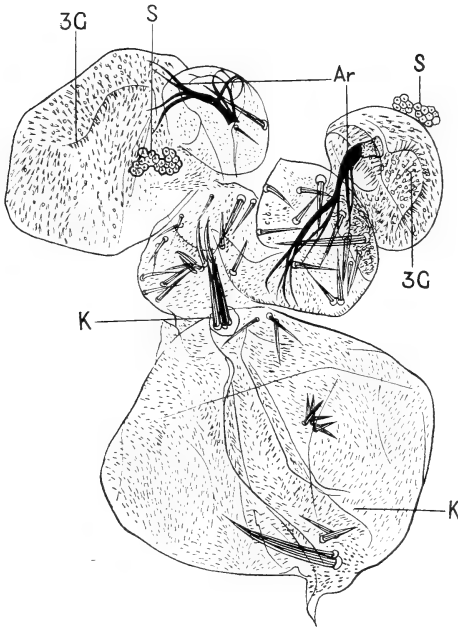


ABB. 3.

Rein bedeutungsfremdes Implantat (Mg XV 30a 5) mit Kopfteilen (K), dazu zwei Antennen, deutlich das 3. Glied (3 G), Sacculus (S) und Arista (Ar.). Vergr. 125 ×.

eingeschränkt. Gleichzeitig setzen aber die bedeutungsfremden Differenzierungen in ununterbrochener Sequenz und formenreicher Ausgestaltung ein.

#### 4. ZUM BEDEUTUNGSEIGENEN LEISTUNGSINVENTAR

Trotz der langandauernden Kultur im Adultwirt verharren die sich vermehrenden Zellen der implantierten Blasteme in larvalem Zustand. Irgendwelche deutlich imaginale Differenzierungsvorgänge wurden nie festgestellt. Dieser Befund, der für die Genital-

scheibe gilt, steht in einem gewissen Gegensatz zu dem, was SCHLÄPFER (1963) für Material der Augenscheibe gefunden hat. Dort werden im Adultmilieu stark verzögerte, erste Metamorphoseschritte eingeleitet (Bildung von Ommochrompigment und gelegentlich etwas Adultcuticula). Wie unsere Rücktransplantationen zeigen, beeinträchtigt die monatelange Kultur *in vivo*, die Fähigkeit zur Durchführung einer völlig normalen Metamorphose keineswegs. So finden wir selbst im Material aus den letzten Transfergenerationen alle Elemente des männlichen Geschlechtsapparates im histologisch ausdifferenzierten Endzustand: Kontrahierende Teile des Ductus ejaculatorius, Paragonienblasen mit Sekret, Penisteile, Claspers, Lateralplatten, Peripherborsten, Analplatten und Enddarmteile. Allerdings gibt es keine Subkultur, die noch allein das ganze Inventar liefern könnte. Die Linien sind vielmehr auf eine mehr oder weniger eingeschränkte Auswahl spezialisiert. Diese Einengung ist höchst wahrscheinlich zur Hauptsache zurückzuführen auf das angewandte Fragmentationsverfahren, das zwangsläufig dann zum Abzweigen spezialisierter Linien führen müsste, wenn in unseren Blastemen determinierte Areale mosaikartig verteilt wären. Für diese Auffassung sprechen Erfahrungen aus Schachbrettversuchen, sowie die Tatsache, dass bereits in der Ausgangsscheibe ein Anlagemosaik vorliegt (HADORN, BERTANI und GALLERA 1949, URSPRUNG 1959).

Im Gegensatz zur histologischen Ausgestaltung wird die Morphologie und Mustergliederung vieler Teile des Geschlechtsapparates mit der zunehmenden Aufteilungsstufe recht unvollkommen. Dies gilt u.a. für die Elemente des Penisapparates und für das Borstenmuster der Claspers (Abb. 2). In unserer Aufzählung haben wir zudem die Samenpumpen nicht erwähnt. Tatsächlich finden wir in späteren „Generationen“ keine vollständigen Samenpumpen mehr, die noch einen typischen Sklerit einschliessen. Anscheinend sind die morphogenetischen Voraussetzungen für diese Organogenese doch zu sehr gestört. Dagegen treten noch Gewebsskomplexe auf, die wie Wandteile der Samenpumpen aussehen. Sodann fehlen uns Informationen über das Vorkommen der Vasa deferentia in metamorphosierten Proben aus älteren Kulturen. Solche epitheliale Bildungen wären aber in ungeordneten Implantationsverband recht schwierig zu erkennen.

## 5. DIE TENDENZ ZUR MONOKULTUR

In der ersten Mitteilung (HADORN 1963) habe ich auf Grund der damals vorliegenden Erfahrungen nachgewiesen, dass das fortgesetzte Fraktionierungsverfahren zum Verarmen des Inventars in Richtung einer Monokultur führt, wobei sich die verbleibenden Elemente stark vermehren können. Dieser Befund wird durch das nun viel weitreichendere Material voll bestätigt. Doch sind reine Monokulturen, die stets nur entweder Analplatten, Penisteile, Ductus oder Claspers liefern würden, bis heute nie festgestellt worden. Abgesehen von den bedeutungsfremden Bildungen, die aus Genitalprimordien aussprossen, sind vielleicht elementsspezifisch determinierte Zellen benachbarter Feldbereiche überlappend so eng vermengt, dass es unwahrscheinlich wird, in einer Probe nur eine Qualität isolieren zu können. Oder es wäre auch möglich, dass der Determinationszustand im Zeitpunkt des Aufteilens überhaupt noch nicht auf nur eine Entwicklungsrichtung festgelegt wäre. Dann könnten kompetitive Gleichgewichtsreaktionen dazu führen, dass in einem solchen Blastem stets mehrere Strukturen nebeneinander entstehen würden.

## 6. ZUR MORPHOGENESE IN STARK VERGRÖSSERTEN EINHEITSBLASTEMEN

Wenn in partiellen Monokulturen die Zellzahl eines Blastems, das für eine Qualität elementsspezifisch determiniert ist, übermässig proliferiert, so fragt es sich, ob und in welchem Ausmasse nun überdimensionierte Organe oder Organteile entstehen. In der Abb. 2 ist ein Teilbereich eines Clasperproliferates dargestellt. Wir sehen, dass hier nicht ein beliebig grosser „Riesencasper“ erscheint. Es stehen vielmehr Dutzende von gegenseitig abgetrennten Platten und Blasen nebeneinander, die je eine recht variable, aber doch beschränkte Anzahl von Clasperdornen tragen. Noch deutlich wird die Tendenz zur „Arealisierung“ in proliferierenden Analplattensystemen. So ist beispielsweise die Mittelpartie des Implantats der Abb. 4 von 12 mehr oder weniger vollständigen Analplatten (A) besetzt.

Gelegentlich können allerdings auch grössere zusammenhängende Analplattenkomplexe beobachtet werden, deren Borstenzahl das zwei- bis vierfache einer Normalplatte erreicht. Doch zeichnen sich dann in der internen Mustergliederung immer noch Regionen ab, die einer Einzelplatte entsprechen. Solch übergrösse

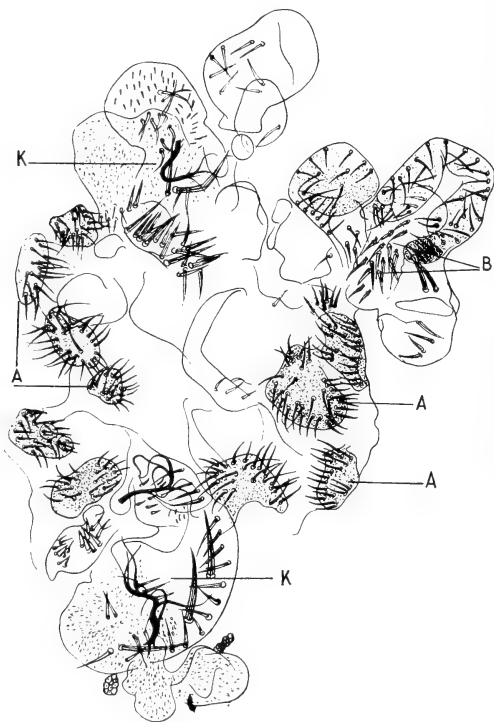


Abb. 4.

Implantat (Mg X 30a 2) mit zahlreichen Analplatten (A), zwei Kopfpartien (K), je mit Arista; ausserdem noch Beinteile (B). Vergr. 75  $\times$ .

Bildungen würden dann verwirklicht, wenn eine endgültige Aussonderung der Areale behindert wäre. Vielleicht kommt es andererseits unter den morphogenetischen Bedingungen eines Implantates auch zu sekundären Fusionen ursprünglich gesonderter Plattenanlagen.

Jedenfalls manifestiert sich in den vergrösserten Blastemen eine dem Material inhärente Tendenz zur Aussonderung und Bildung normal dimensionierter Elemente des Geschlechtsapparates.



## 7. EINIGES ÜBER DIE BEDEUTUNGSFREMDEN LEISTUNGEN

Eine ausführliche Darstellung oder gar Deutung aller bisherigen Ergebnisse muss späteren Mitteilungen vorbehalten bleiben; dies umso mehr, als künftig zu erwartende Befunde manche sich jetzt anzeigende Gesetzmässigkeit verdeutlichen werden. So beschränken

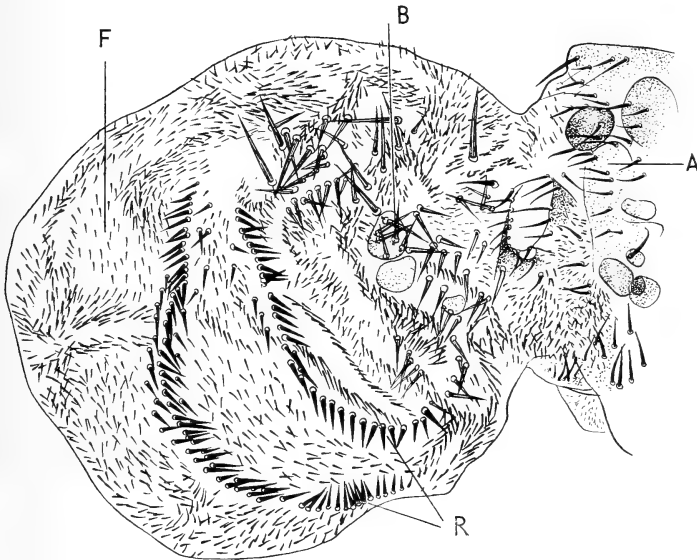


Abb. 5.

Ausschnitt aus Implantat Mg XV 3a 5. Dargestellt eine umfangreiche Flügelpartie (F) und zwei Reihen von Randborsten (R). Basal eingefügt sind Beinteile (B). Die bedeutungsfremden Strukturen stehen in Verbindung mit einer nur randlich dargestellten Analplattenregion (A). Vergr. 110  $\times$ .

wir uns hier auf einige Aussagen, die als gesichert gelten können und die wir durch einige Abbildungen belegen. Zur Identifizierung der bedeutungsfremden Einzelstrukturen dient uns u.a. die Borstenmorphologie (gestreift oder glatt, schlank oder dicklich zugespitzt). Wichtig ist sodann das von feinen Härchen gebildete Grundmuster, zwischen den Makrochaeten. Beinteile erkennen wir, abgesehen von der Verteilung und Form der Borsten, am Vorkommen von kleinen Schüppchen („bracts“), die die Borsten begleiten (vergl. HANNAH-ALAVA 1958).

a) Männliche Genitalprimordien liefern je nach dem Charakter der Kultur gelegentlich, häufig oder regelmässig bedeutungsfremde Differenzierungen.

b) Beobachtet wurden u.a. folgende Strukturen: Kopfteile, wie Stirnbereiche, Antennen (Abb. 3, 4 und 6) und Palpus (Abb. 6); Partien der Flügelspreite, gelegentlich mit Randborstenreihen (Abb. 5); Beine und zwar sowohl Ganzbildungen, die von der Coxa bis zum Endtarsus reichen, wie auch nur proximale (Abb. 4, 5) oder distale Teilstücke (Abb. 6).

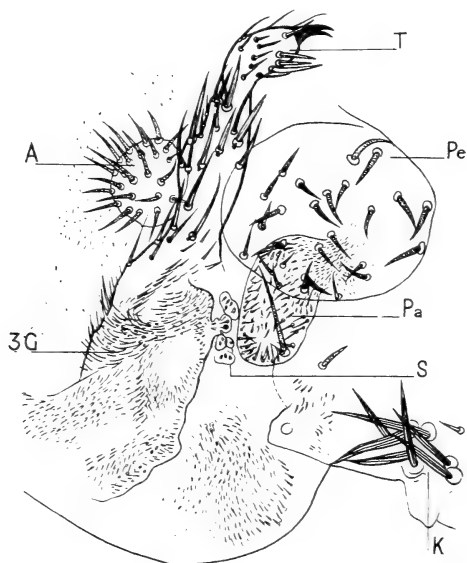


Abb. 6.

Ausschnitt aus Implantat Mg XXVIII 3a 1. Neben bedeutungseigener Analplatte (A) und einer Blase mit Peripherborsten (Pe) sind gestreifte Kopfborsten (K), ein Palpus (Pa), ein 3. Antennenglied (3 G) mit Sacculus (S) sichtbar. Das Antennenglied trägt wie bei der Mutante *aristapedia* einen Tarsus (T). Vergr. 220  $\times$ .

c) Die bedeutungsfremden Organe stehen häufig in unmittelbarem Kontakt mit bedeutungseigenen Leistungen. So erscheint der Flügel in Abb. 5 als Auswuchs aus einem grösseren anschließenden Analplattenareal.

d) Ein und dasselbe Testimplantat kann nebeneinander sowohl Kopf-, Bein-, wie Flügelteile liefern. Doch gibt es auch Sublinien mit Tendenzen zur bedeutungsfremden Monokultur.

e) Die bedeutungsfremden Differenzierungen sind in jeder Hinsicht regions- und mustertypisch ausgestaltet: gestreifte Kopfborsten (Abb. 3 und 6), Beinborsten mit Nebenschuppen = „bracts“, Tarsus mit Klauen (Abb. 6); drittes Antennenglied mit Sensilla und Sacculus (Abb. 3), sowie Aristae (Abb. 3 und 4).

Die an den bedeutungsfremden Differenzierungen beteiligten Zellen stammen ausnahmslos aus den implantierten Genitalprimordien selbst. Sie sind also nicht etwa auf zugewanderte Zellen aus der Kopf-, Bein- oder Flügelanlage des Wirtes zurückzuführen. Diese Aussage stützt sich auf eine besondere Versuchsanordnung, wobei Genitalprimordien der Mutante *yellow* in *sepia*-Fliegen zur Proliferation und Metamorphose gebracht werden. Ausserdem haben wir Geschlechtskammzähne in bedeutungsfremden Vorderbeinen festgestellt, und zwar bei Implantaten, die sich nur in weiblichen Wirten entwickelt haben.

## 7. SCHLUSSBEMERKUNGEN

Das imaginale Abdomen hat sich als ein ausgesprochen günstiges Medium erwiesen, das uns erlaubt, larvale Primordien wohl unbeschränkt lange zu kultivieren. Damit ergeben sich zahlreiche Möglichkeiten für neue entwicklungsphysiologische und genetische Versuchsanordnungen. Mit dem eben mitgeteilten Verfahren, das überraschende Entwicklungspotenzen in larvalen Imaginalscheiben aufgedeckt hat, konnten wir u.a. auch zeigen, dass im Adultmilieu die larvalen Riesenchromosomen der Speicheldrüsenkerne übermässig gross werden können (HADORN, GEHRING und STAUB 1963).

Aus den *bedeutungseigenen Differenzierungen* der kultivierten und rücktransplantierten Primordien ergeben sich mannigfache Aufschlüsse über den Determinationszustand, die Feldorganisation, die Organogenese und die Rolle kleiner Zellgruppen in der Musterbildung.

Auf eine Interpretation der interessanten *bedeutungsfremden Differenzierungen* möchten wir in dieser Mitteilung verzichten. Es sei lediglich hervorgehoben, dass das proliferierende Wachstum der Blasteme als eine notwendige Voraussetzung des „Bedeutungswandels“ erscheint. Im übrigen dürfen wir auf Grund weiterer Beobachtungen annehmen, dass ausser den hier erwähnten Kopf-, Bein- und Flügelbildungen noch weitere Körperteile aus Zellen

der Genitalprimordien hervorgehen können. Zudem wissen wir bereits, dass auch weibliche Genitalscheiben, sowie Augen-Antennenscheiben bedeutungsfremde Strukturen liefern. In weiteren Versuchen wird nun geprüft, wie weit, nach welchen Richtungen hin und in welcher Sequenz die übrigen larvalen Primordien bedeutungsfremde Leistungen vollbringen.

Auf die Beziehungen unserer Befunde zu den bei *Drosophila* bekannten *homoeotisch Mutationen* sei lediglich hingewiesen. Schliesslich interessieren wir uns für den allfälligen Nachweis von *somatischen Mutationen* in Zellen, deren Gene sich nun fortgesetzt replizieren.

### ZUSAMMENFASSUNG

Larvale Zellverbände aus der männlichen Genital-Imaginalscheibe von *Drosophila melanogaster* wurden nun während 11 Monaten im Abdomen adulter Weibchen kultiviert. Die Implantate proliferieren in diesem Milieu sehr stark; dabei bleibt sowohl der larvale Zustand, wie auch die latente Fähigkeit zur imaginalen Differenzierung dauernd erhalten. Nach Rücktransplantation in larvale Wirte liefern Teilstücke der Zellkulturen unter dem Einfluss der Metamorphosehormone ausser normalen Adultstrukturen, die der ursprünglichen und eigenen prospektiven Bedeutung der Blasteme entsprechen, sehr häufig auch bedeutungsfremde Differenzierungen, wie imaginale Kopf-, Flügel- und Beinstrukturen.

### SUMMARY

Groups of larval cells from the male genital-imaginal disc of *Drosophila melanogaster* up to the present have been cultivated in the abdomen of adult females for eleven months. In this milieu the implants exhibit a strong proliferating activity. The larval state of the implanted cells as well as their latent capacity for imaginal differentiation is permanently maintained. Fragments of the cultures which have been retransplanted into larval hosts differentiate, under the influence of the hormones of metamorphosis, normal adult organs. These include not only structures which are in accordance with the prospective significance of the original genital blastemas. In addition such implants form struc-

tures of foreign significance such as parts of the adult head, wings and legs.

## RÉSUMÉ

Des groupes de cellules larvaires du disque imaginal mâle de *Drosophila melanogaster* ont été cultivés pendant 11 mois dans l'abdomen de femelles adultes. Dans ce milieu les cellules prolifèrent activement en conservant non seulement leur état larvaire, mais aussi la faculté latente de différenciation imaginale. Des fragments de ces cultures sont réimplantés dans des hôtes larvaires. Sous l'influence des hormones de la métamorphose ils produisent très souvent, en dehors des structures adultes normales — conformes à leur signification prospective de blastème génital — des différenciations étrangères à cette signification primordiale, c'est-à-dire des structures appartenant à la tête, aux ailes et aux extrémités.

## LITERATUR

- HADORN, E. 1963. *Differenzierungsleistungen wiederholt fragmentierter Teilstücke männlicher Genitalscheiben von Drosophila melanogaster nach Kultur in vivo*. Developmental Biology 7: 617-629.
- BERTANI, G. und GALLERA, J. 1949. *Regulationsfähigkeit und Feldorganisation der männlichen Genital-Imaginalscheibe von Drosophila melanogaster*. Roux' Archiv 144: 31-70.
- und GLOOR, H. 1946. *Transplantationen zur Bestimmung des Anlagemusters in der weiblichen Genital-Imaginalscheibe von Drosophila*. Rev. suisse Zool. 53: 495-501.
- GEHRING, W. und STAUB, M. 1963. *Extensives Grössenwachstum larvaler Speicheldrüsenchromosomen von Drosophila melanogaster im Adultmilieu*. Experientia 19: 530-531.
- HANNAH-ALAVA, A. 1958. *Morphology and chaetotaxy of the legs of Drosophila melanogaster*. J. Morph. 103: 281-310.
- SCHLÄPFER, Th. 1963. *Der Einfluss des adulten Wirtsmilieus auf die Entwicklung der Augen-Antennenscheiben von Drosophila melanogaster*. Roux' Archiv 154: 378-404.
- URSPRUNG, H. 1959. *Fragmentierungs- und Bestrahlungsversuche zur Bestimmung von Determinationszustand und Anlageplan der Genitalscheiben von Drosophila melanogaster*. Roux' Archiv 151: 504-558.
-



# Das Induktionsvermögen gereinigter Induktionsfaktoren im Kombinationsversuch

von

**Hildegard TIEDEMANN und Heinz TIEDEMANN**

Heiligenberg-Institut, Heiligenberg/Bodensee <sup>1</sup>

Mit 6 Textabbildungen.

*Herrn Professor Dr. F. Baltzer zum  
80. Geburtstag in Verehrung gewidmet.*

## A. EINLEITUNG

Durch verschiedene Abschnitte des praesumptiven Mesoderms der Gastrula und Neurula (MANGOLD 1933, HOLTFRETER 1936) kann noch undeterminiertes Ectoderm der Amphibiengastrula veranlasst werden, Vorderkopforgane, Hinterkopforgane oder Rumpfe und Schwänze zu bilden. Versuche mit sogenannten heterogenen Induktoren, insbesondere Geweben adulter Organismen, zeigten, dass einzelne Organe ebenfalls vorwiegend bestimmte regionsspezifische Strukturen induzieren können (HOLTFRETER 1934, TOIVONEN 1938, CHUANG 1938, 1939, TOIVONEN 1953), so z. B. Mäuseniere vorwiegend Vorderkopf- und Hinterkopforgane, Meer-schweinchen-Knochenmark dagegen vorwiegend Chorda und Muskulatur. Diese Ergebnisse machten es wahrscheinlich, dass nicht nur ein einziger, sondern mehrere Induktionsfaktoren vorhanden sind, und es ergab sich die Frage, ob für jeden der einzelnen Körperabschnitte ein bestimmter Induktionsfaktor verantwortlich

---

<sup>1</sup> Derzeitige Anschrift: Carnegie Institution of Washington, Department of Embryology, 115 W. University Parkway, Baltimore 10, (MD) USA.

ist, oder ob die regionalen Verschiedenheiten etwa durch das Zusammenwirken von nur 2 Faktoren hervorgerufen werden.

In den letzten Jahren konnte aus Meerschweinchen- Knochenmark (YAMADA 1961) und aus 9 Tage alten Hühnerembryonen (TIEDEMANN 1963b) ein ausschliesslich mesodermale Organe (Muskel, Chorda, Niere) induzierender Faktor angereichert werden. Bei der Reinigung des mesodermalen Faktors aus Hühnerembryonen wurde nun festgestellt, dass die wenig gereinigten Fraktionen vollständige Schwänze mit Neuralrohr, der hochgereinigte Faktor aber nur Muskulatur, Chorda und Nieren induzierten (TIEDEMANN 1959). Es war deshalb zu vermuten, dass bei der Induktion vollständiger Schwänze mit Neuralrohr der mesodermale Faktor mit einem Neuralgewebe induzierenden Faktor zusammenwirkt, und dass nach dessen Abtrennung bei der weiteren Reinigung nur noch mesodermale Induktionen hervorgerufen werden. Kombinationsversuche von TOIVONEN und SAXÉN (1955), die vorwiegend archencephal — deuterencephal und vorwiegend mesodermal induzierende Gewebe gemeinsam auf Gastrulaectoderm einwirken liessen, hatten schon die Annahme verstärkt, dass zwei Faktoren bei der Induktion vollständiger Schwänze zusammenwirken. Kürzlich konnte eine aus Hühnerembryonen isolierte, vor allem deuterencephal induzierende Substanz chromatographisch in eine spinocaudal — mesodermal und eine vorwiegend archencephal induzierende Fraktion zerlegt werden (TIEDEMANN, BECKER, TIEDEMANN 1963). Es war deshalb zu vermuten, dass auch komplexe Hinterkopfinduktionen durch das Zusammenspiel zweier Faktoren entstehen. Um diese Hypothese weiter zu prüfen, kombinierten wir eine angereicherte, mesodermal induzierende Fraktion mit einer angereicherten, neural-archencephal induzierenden Fraktion in verschiedenen Mengenverhältnissen und untersuchten die Induktionswirkung der Kombinationen.

## B. BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

1. *Darstellung des mesodermalen Faktors:* Die mesodermal induzierende Fraktion wurde aus 9 Tage alten Hühnerembryonen durch Extraktion mit Pyrophosphatpuffer sowie Fraktionierung mit Ammoniumsulfat und Protaminsulfat gewonnen. Der Überstand der Protaminsulfatfällung wurde dann in Gegenwart von Harnstoff an Diaethyl-



aminoethylcellulose chromatographiert. Verwendet wurde die mit 0,1 m Phosphat- 0,2 m NaCl-Puffer (pH 6,5) eluierte Fraktion (TIEDEMANN 1963b). Nach 36 std. Dialyse gegen Wasser wurde die Fraktion in gefrorenem Zustand getrocknet. Die gefriergetrocknete Substanz wurde in wenig 0,1% NaCl aufgenommen, zur Entfernung von Luftbläschen im Exsiccator bis 30 mm Hg evakuiert, mit 2—3 Vol. Aethylalkohol gefällt und zentrifugiert. Der Rückstand wurde noch 1 mal mit 96% Alkohol und 1 mal mit 66% Alkohol gewaschen und dann im Exsiccator an der Wasserstrahlpumpe getrocknet.

2. *Darstellung des neuralen Faktors*: Aus 9 Tage alten Hühnerembryonen gewonnene Ribosomen wurden mit Pyrophosphatpuffer extrahiert. Die extrahierten Proteine und Nucleoproteide wurden dann an Diaethylaminoethylcellulose chromatographiert (TIEDEMANN, KESSELRING, BECKER, TIEDEMANN 1962, TIEDEMANN, BECKER, TIEDEMANN 1963). Mit 0,5 m NaCl-0,1 m Orthophosphat (pH 6,5) wird zunächst ein Ribonucleoproteid und dann reine Nucleinsäure extrahiert. Induktionswirkung besitzt nur das Ribonucleoproteid. Die inaktive Ribonucleinsäure wurde verworfen. Um die geringe Ribonucleoproteidmenge besser handhaben zu können, wurde  $\gamma$ -Globulin, welches selbst keinerlei Induktionswirkung besitzt, hinzugefügt (etwa 3-fache Gewichtsmenge). Die weitere Präparation erfolgte wie beim mesodermalen Faktor.

3. *Kombination der beiden Faktoren*: Die mesodermal induzierende Substanz und die neural induzierende Substanz (einschliesslich  $\gamma$ -Globulin) wurden im Gewichtsverhältnis 1:1, 1:10, 1:50 vermischt, in Wasser suspendiert und im Teflon-Homogenisator homogenisiert. Anschliessend wurde mit Alkohol gefällt und wie oben beschrieben weiter verarbeitet.

4. *Ausführung der Testversuche*: Alle Substanzen wurden an *Triturus alpestris* nach der Einsteckmethode (MANGOLD 1923) ausgetestet. Die Keime wurden ca. 15 Tage in Cibazol-haltiger Holtfreterlösung aufgezogen, fixiert und in Serien geschnitten. Bei der histologischen Auswertung wurde die Menge der jeweils induzierten verschiedenen Gewebe in 3 Kategorien „viel“, „mittel“, „wenig“ eingeteilt. Auf dem Blockdiagramm Abb. 5 wurde die jeweils induzierte Gewebemenge durch die Breite der Blocks dargestellt.

## C. ERGEBNIS DER TESTVERSUCHE

### 1. INDUKTIONSLEISTUNGEN DER AUSGANGSFRAKTIONEN

*Die mesodermale Ausgangsfraktion E 351/5* induzierte in 58% der Fälle durchweg grosse Rumpfe, die sich ventral-median oder seitlich am Wirtsrumpf hinzogen.

Die induzierten Rümpfe enthielten nur mesodermale Organe. In allen Fällen besaßen sie umfangreiche Vornierenbildungen, die die normalen Organe der Wirtslarve an Grösse weit übertrafen. Eine Larve enthielt als einziges induziertes Organ einen Vornierengang mit sehr weitem Lumen. In den übrigen Fällen traten ausserdem grosse Pakete von Rumpfmuskulatur auf, die stets deutlich in Myomeren gegliedert waren, obwohl nur in 2 Fällen gleichzeitig eine induzierte Chorda vorhanden war. In einem Fall begann der induzierte Organkomplex cranial mit einer kleinen, ventral-median gelegenen Extremitätenknospe.

In keinem Fall war ein Neuralrohr induziert worden. Keine der Rumpfbildungen lief in ein Schwänzchen aus. Flossensaumbildungen fehlten ebenfalls vollständig. Die induzierten Rümpfe waren nicht oder nur sehr schwach pigmentiert.

Abb. 1 zeigt einen Querschnitt durch die Larve E 351/5-3, welche eine grosse mesodermale Induktion trägt. Sie liegt ventral-median im hinteren Rumpfbereich und beginnt mit einer kleinen sekundären Beinknospe. Ihr folgen eine Anzahl von Vornierengängen, welche den Bauchraum zwischen Darm und Bauchwand füllen, und dann umfangreiche Pakete myomer gegliederter Rumpfmuskulatur. Die induzierten Organe verdrängen einen Teil der Wirtsorgane und unterdrücken sie sogar, wie auf der Abbildung zu sehen ist; das Neuralrohr und die Rumpfmuskulatur des Wirtes sind noch vorhanden. Der Darm der Wirtslarve endete noch vor dem Rumpfende blind, ohne Afterbildung. Die primäre Chorda und das primäre Nierensystem sind hier an der abgebildeten Stelle, an welcher die Induktion ihre grösste Ausdehnung erreicht, unterbrochen; die Chorda tritt weiter caudal wieder auf. Der Rumpfquerschnitt der Larve ist angefüllt mit der induzierten Muskulatur. Links auf dem Schnitt befinden sich induzierte Nierenkanälchen.

*Die neurale Ausgangsfraktion E 335/12* induzierte in 50% der Fälle mittelgrosse bis grosse Köpfehen, von welchen 82% archencephale und nicht näher bestimmbare neurale und 36% deuterencephale Organe enthielten.

In 9 von 11 positiven Fällen traten mittelgrosse bis grosse Gehirnkompexe auf. Sie liessen sich teilweise als Vorderhirne und Zwischenhirne identifizieren. In einem Fall erschien ein kleines, undefinierbares Neuralgebilde. 3 Buckel enthielten Nasen, 4 Buckel Augen, einzeln oder in Mehrzahl. Die induzierten Augen besaßen

keine Linsen; sie waren teilweise fast normal gross, teilweise bestanden sie nur aus kleinen Zellgruppen in der Wand des Zwischen-

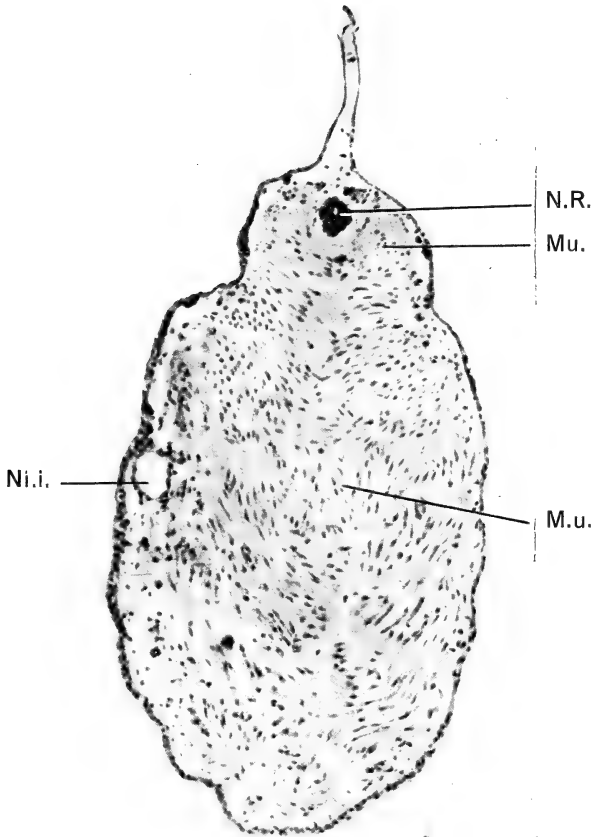


ABB. 1.

Querschnitt durch eine Larve der Serie E 351/5 (mesodermale Ausgangsfraction). Von den primären Achsenorganen sind Neuralrohr (N.R.) und Rumpfmuskulatur (Mu) erhalten. Primäre Chorda, Nierengänge und Darm sind durch die induzierte Muskulatur (Mu.i.) verdrängt. Links ein Gang der induzierten Vornieren (Ni.i.). Vergr. ca. 53  $\times$ .

hirnes und waren nur durch den charakteristischen Tapetumfleck als Augen gekennzeichnet. Gehörblasen erschienen in 4 Fällen und hintere Gehirnabschnitte in 2 Fällen. Sie waren alle klein. Ein Köpfchen trug einen Balancer.

In 5 Fällen reagierte der Darmtraktus des Wirtes auf die Nachbarschaft der induzierten Kopforgane. Reaktionen wurden im Kiemendarm—, im Oesophagus—und im Dünndarmbereich beobachtet. Sie konnten bestenfalls in der Ausbildung regelrechter zusätzlicher Kiemenspalten bestehen, oder beschränkten sich nur auf eine Regionsänderung des benachbarten Darmepithels, etwa von Dünndarmepithel zu Oesophagus- oder Magenepithel. In der Nachbarschaft sekundärer Kiemendarmbildungen wurden in 4 Fällen induzierte Knorpelspangen gefunden.

Als Beispiel wurde die Larve E 335/12-1 gewählt. Sie trägt ein induziertes Köpfchen, das ventral-median von der Augenregion bis in die Herzgegend reicht. Es enthält einen grossen Gehirnteil, welcher aus Zwischenhirn mit Augen und einer Epiphyse, möglicherweise Vorderhirn (Lumen und Faserkerne) und wohl mittleren Gehirnabschnitten besteht. An Sinnesorganen sind 2 grosse Nasen, 2 Augen und 2 Augenfragmente vorhanden.

Unser Schnitt auf Abb. 2 ist durch die Ohrregion der Wirtslarve geführt. Ventral in dem induzierten Köpfchen sind ein grosser Gehirnkomples, eine Nase und 2 Augen zu sehen. An der Basis des Höckers sind zusätzliche, aus dem Kiemendarm zu dem induzierten Höcker führende Kiementaschen zu erkennen.

## 2. INDUKTIONSLEISTUNGEN DER KOMBINIERTEN FRAKTIONEN

### a) *Kombination der mesodermalen und der neuralen Fraktion im Verhältnis 1:1 (Ko. I).*

Eine durch Kombination der mesodermalen mit der neuralen Ausgangsfraction im Verhältnis 1:1 gewonnene Substanz (Ko. I) induzierte in 67% der Fälle mittelgrosse bis grosse Organkomplexe. Sie bestanden aus Rumpf- und Schwanzbildungen und wenigen, kleinen Hinterkopfbildungen.

Die Rumpf- und Schwanzbildungen (12 von 15 Fällen = 80%) waren mittelgross bis gross. Die induzierten Rümpfe (6 Fälle) enthielten 4 mal eine Chorda, 5 mal Rumpfmuskulatur, in 2 Fällen ein Neuralrohr (1 mal nur sehr klein) und in 2 Fällen einen Enddarm. 5 Rümpfe liefen in ein Schwänzchen aus.

Von den 12 induzierten Schwänzchen besaßen nur 5 Achsenorgane (Chorda 2, Muskulatur 5, Neuralrohr 3). 7 Schwänzchen

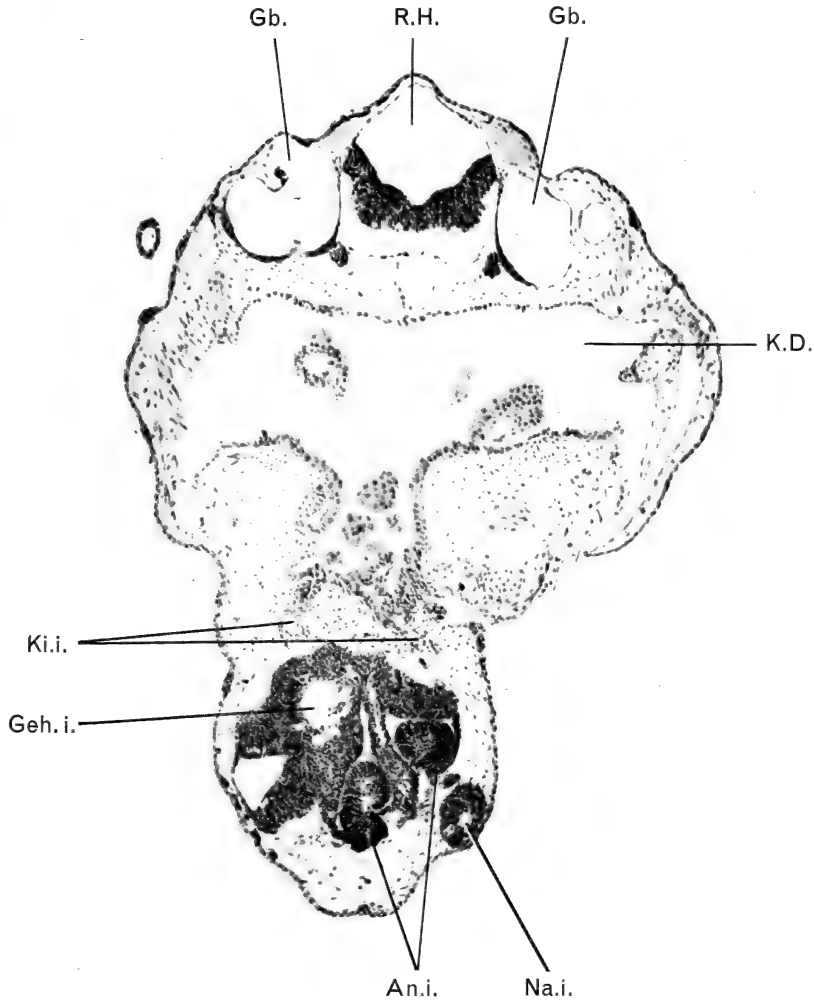


ABB. 2.

Querschnitt durch eine Larve der Serie E 335/12 (neurale Ausgangsfraktion). Ventral-median das induzierte Köpfchen mit einer Nase (Na.i.), 2 Augen (Au.i.), einem grossen Gehirnteil (Geh.i.) und zusätzlichen Kiemenspalten (Ki.i.). Dorsal das Rautenhirn (R.H.), die Gehörblasen (Gb.) und der Kiemendarm (K.D.) der Wirtslarve. Vergr. ca. 145  $\times$ .

enthielten ausschliesslich lockeres Mesenchym. Alle Schwanzbildungen besaßen gut ausgebildete Flossensäume.

Die Hinterkopfbildungen (4 von 15 Fällen = 27%) erschienen 3 mal als einzige Induktionsleistung und 1 mal als cranialer Beginn

einer komplexen Kopf-Rumpf-Schwanzinduktion. Sie waren alle nur klein und bestanden aus einer winzigen, primitiven Gehörblase, etwas Mesenchym und Melanophoren. 3 mal wuchsen vom benachbarten Wirtsdarm Kiementaschen nach der Induktion hin aus. In der Nähe der Kiementaschen waren Knorpelspangen induziert worden. Gehirnteile fehlten vollständig. In einem Fall war etwas neuroides Gewebe vorhanden.

Gemeinsam mit den induzierten Organkomplexen traten stets Mesenchym und Melanophoren auf, häufig in grösseren, das normale Mass überschreitenden Mengen.

b) *Kombination der mesodermalen und der neuralen Fraktion im Verhältnis 1: 10 (Ko. II).*

Die durch Kombination im Verhältnis 1: 10 gewonnene Substanz Ko. II induzierte bei 56% der Larven meist auffallend grosse und reichhaltige Organkomplexe. Sie bestanden aus Kopf-, Rumpf- und Schwanzbildungen. 4 kleine Induktionen (31%), die aus unbestimmbarem neuralem oder neuroidem Gewebe, etwas Knorpel, Mesenchym und Melanophoren bestanden, waren keiner bestimmten Körperregion zuzuordnen.

Eine Vorderkopfinduktion war nur in einem einzigen Fall zu beobachten. Sie bestand aus Vorderhirn, Zwischenhirn, einem Auge mit einer Linse, die möglicherweise vom Irisrand abgeschnürt worden war, 2 Nasen und einer freien Linse.

Hinterkopfbildungen waren in 7 von 13 Fällen (54%) aufgetreten. Sie enthielten alle grosse Gehirne, von welchen 2 einwandfrei als Rautenhirne zu identifizieren waren, und 1 bis 4 grosse Gehörblasen. Kopfmuskulatur (2 Fälle), Knorpelspangen (3 Fälle) und vom Wirtsdarm zum Induktionskomplex hinziehende zusätzliche Kiemenspalten (4 Fälle) ergänzten die neuralen Organe, sodass vollständige, komplexe Hinterkopfbildungen entstanden. In 5 Fällen wurden die Hinterkopfinduktionen durch Rumpfe und Schwänze zu sekundären Embryonen ergänzt.

Rumpf- und Schwanzbildungen erschienen in 6 Fällen (46%). Die induzierten Rumpfe waren oft kurz gestaucht. Sie enthielten alle ein Neuralrohr, in Myomeren gegliederte Rumpfmuskulatur, in 5 Fällen eine Chorda und einmal auch Vornierenkanälchen und eine Extremitätenknospe.

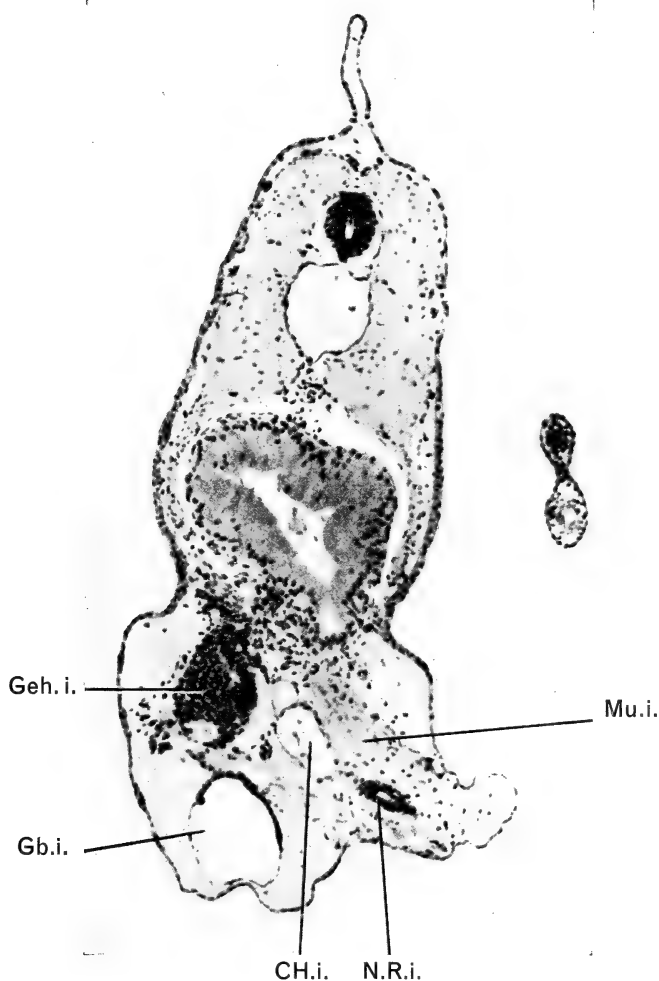


ABB. 3.

Querschnitt durch eine Larve der Serie Ko. II (neural: mesodermal = 10:1). Ventral-median die grosse Hinterkopf-Rumpf-Schwanzinduktion mit Gehirn (Geh.i.), Gehörblase (Gb.i.), Neuralrohr (N.R.i.), Chorda (Ch.i.) und Rumpfmuskulatur (Mu.i.). Vergr. ca. 115  $\times$ .

Die induzierten Schwänze (5 Fälle) enthielten ebenfalls alle ein Neuralrohr, 4 mal eine Chorda und 4 mal Skelettmuskulatur. Alle induzierten Schwänze besaßen ausgeprägte Flossensäume. Ein Schwänzchen enthielt ausser einem Neuralrohr nur lockeres Mesenchym.

Abb. 3 zeigt einen Schnitt durch die Larve Ko. II-1. Sie besitzt im Dünndarmbereich ventral-median eine grosse, vom Wirtsrumpf abstehende Hinterkopf-Rumpf-Schwanzinduktion. Der Köpfchen-  
teil enthält ein mittelgrosses Gehirn, an dessen Seiten 2 grosse Gehörblasen liegen. Das Gehirn läuft in ein Neuralrohr aus, welches durch den Rumpf- und Schwanzteil führt. Als weitere Achsenorgane sind Chorda und Rumpfmuskulatur vorhanden. Das Schwänzchen besitzt breite Flossensäume. Auf dem Schnittbild sind der Gehirnteil und eine der beiden Gehörbläschen zu sehen, ferner das Neuralrohr, die Chorda und die umfangreiche, myomer gegliederte Rumpfmuskulatur.

c) *Kombination der mesodermalen und der neuralen Fraktion  
im Verhältnis 1: 50 (Ko. III).*

Die durch Kombination im Verhältnis 1: 50 gewonnene Fraktion induzierte in 56% der Fälle vorwiegend grosse Organkomplexe. Sie bestanden ausschliesslich aus Kopfbildungen.

Vorderkopfbildungen waren bei 4 von 10 positiven Fällen (40%) festzustellen. Eine der Vorderkopfinduktionen bestand aus einem Vorderhirn mit Paraphyse, einem Zwischenhirn, 3 Augen und 2 Nasen. In den 3 übrigen Fällen war jeweils eine Nase induziert worden. Vielleicht enthielten die hier vorhandenen grossen Gehirnkomplexe auch vordere Abschnitte. Einwandfreie Merkmale fehlten aber. An die Vorderkopfbildungen schlossen sich stets auch Hinterkopfbildungen an.

Die Hinterkopfbildungen (7 von 10 Fällen) enthielten alle grosse Gehirnkomplexe, die teilweise deutlich die Merkmale des Rautenhirns aufwiesen, und jeweils 1 bis 4 grosse, gut ausgebildete Gehörblasen. Kiemenspalten (3 Fälle), Knorpelspangen (2 Fälle) und Kopfmuskulatur (1 mal) ergänzten die Neuralorgane zu komplexen Hinterkopfinduktionen.

In 3 Fällen waren die Induktionen sehr klein geblieben. Die Buckelchen enthielten nur überzählige Kiemenspalten, Mesenchym und Melanophoren. Sie konnten keiner bestimmten Körperregion zugeordnet werden.

Als Beispiel wurde die Larve Ko. III-5 gewählt. Sie besitzt im Dünndarmbereich ventral-median eine grosse Hinterkopfinduktion, die einen grossen Gehirnteil, eine riesige Gehörblase,



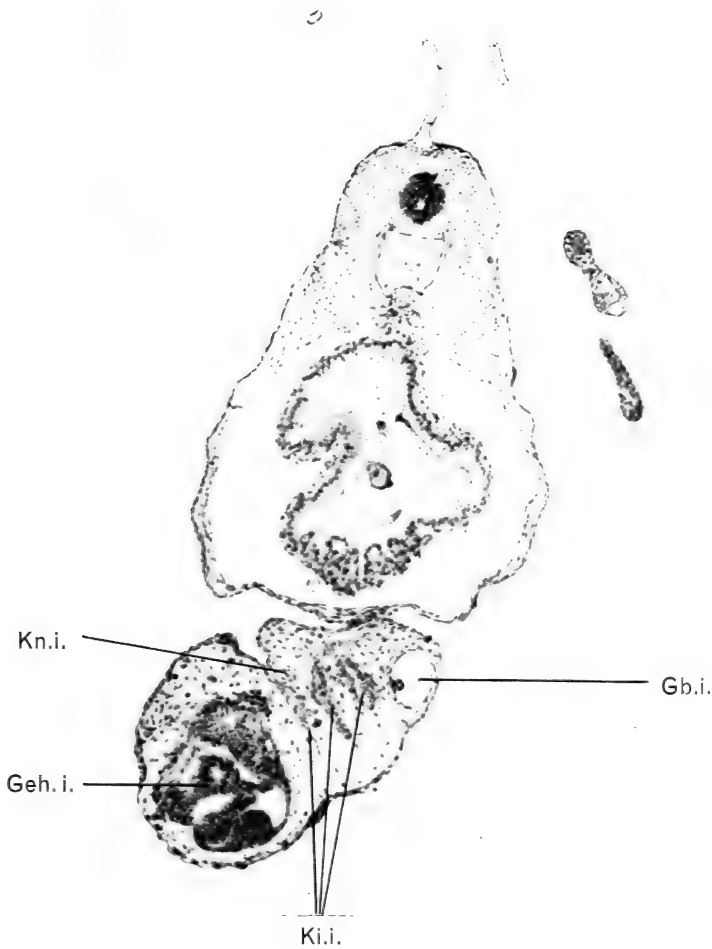


ABB. 4.

Querschnitt durch eine Larve der Serie Ko. III (neural: mesodermal = 50:1). Ventral-median abgesetzt das induzierte Köpfchen mit Gehirn (Geh.i.), Gehörblase (Gb.i.), zusätzlichen Kiementaschen (Ki.i.) und einer Knorpelspange (Kn.i.). Vergr. ca. 46 ×.

etwas Kopfmuskulatur und eine Knorpelspange enthält. In der Wand des Köpfchens befinden sich Sinnesknospen. Vom Darm der Wirtslarve zweigt ein Ast ab, der in dem Köpfchen zusätzliche Kiementaschen bildet. Abb. 4 zeigt einen Schnitt durch die Larve, auf welchem der induzierte Gehirnteil und die Gehörblase

zu sehen sind, ausserdem die zusätzlichen Kiementaschen, von welchen eine nach aussen mündet, und eine Knorpelspange im Bereich der Kiemenspalten.

### 3. VERGLEICH DER INDUKTIONSLEISTUNGEN VON AUSGANGSFRAKTIONEN UND KOMBINATIONSFRAKTIONEN

In Abb. 5 ist angegeben, mit welcher prozentualen Häufigkeit die verschiedenen Körperregionen durch die einzelnen Fraktionen

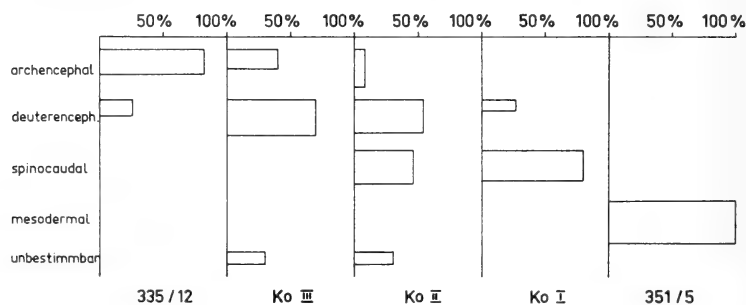


ABB. 5.

Vergleich der regionsspezifischen Induktionsleistungen von Ausgangsfractionen und Kombinationsfractionen nach ihrer prozentualen Häufigkeit und ihrer durchschnittlichen Grösse.

induziert wurden. Die Breite der Säulen entspricht dem Umfang der zu einer bestimmten Körperregion gehörenden induzierten Organe. Abb. 6 zeigt, mit welcher prozentualen Häufigkeit die verschiedenen Organe in den einzelnen Serien auftraten. Der Umfang der induzierten Organe ist dabei nicht berücksichtigt worden.

Die neurale Ausgangsfraction, E 335/12, rief bei 82% der positiven Fälle umfangreiche archencephale Bildungen hervor, nämlich vordere Gehirnteile, Nasen, Augen und Balancer. Bei 36% der Fälle erschienen weniger umfangreiche deuterencephale Induktionen. Sie setzten sich zusammen aus hinteren Gehirnabschnitten, Gehörblasen und Knorpelspangen. Der deuterencephale Anteil trat also hinter dem archencephalen weit zurück.

Die Kombinationsfraktion Ko. III (mesodermal: neural = 1: 50) induzierte bei 70% der positiven Fälle Hinterkopfbildungen. Sie bestanden aus hinteren Gehirnabschnitten, Gehörblasen, Kopfmuskulatur und Knorpelspangen, waren also recht vollkommen und ausserdem auch sehr umfangreich. Der noch vorhandene archencephale Anteil tritt dagegen zurück. Vorderkopforgane waren noch bei 40% der positiven Fälle zu beobachten. Sie waren wenig umfangreich. Vor allem wurden Nasen induziert, daneben seltener Augen und vordere Gehirnabschnitte. Die Zugabe eines Teils der mesodermalen Ausgangsfraktion zu 50 Teilen der

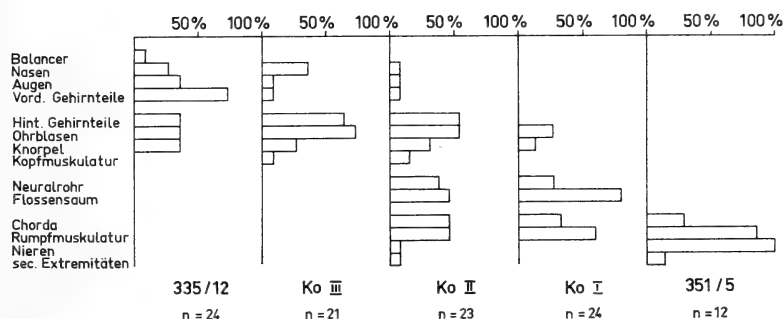


ABB. 6.

Prozentuale Häufigkeit der durch die Ausgangsfraktionen und die Kombinationsfraktionen induzierten Organe.

neuralen Ausgangsfraktion hatte also eine deutliche Verschiebung von vorwiegend archencephaler zu vorwiegend deuterencephaler Induktionsleistung bewirkt.

Die Kombinationsfraktion Ko. II (mesodermal: neural = 1: 10) wies in ihren Induktionsleistungen eine weitere Verschiebung zu caudalen Bildungen auf. Bei 8% der Fälle erschienen noch Vorderkopforgane, nämlich vordere Gehirnanteile mit Nasen und Augen. 54% der Induktionen enthielten umfangreiche deuterencephale Bildungen, vor allem Rautenhirne und Gehörblasen, daneben noch Kopfmuskulatur und Knorpelspangen. 46% der positiven Fälle besaßen grosse Rumpf- und Schwanzinduktionen. Fast alle Rumpfe und Schwänze enthielten sämtliche Achsenorgane, nämlich Chorda, Neuralrohr und Skelettmuskulatur, seltener auch Nieren und sekundäre Extremitäten. Ein Teil der Rumpfbildungen und die Schwänzchen trugen Flossensäume.

Ein höherer Anteil des mesodermalen Induktors bewirkte also, dass die Induktion vorderer Kopfabschnitte weiter zurückging, in unserem Fall von 40% auf 8%. Die Ausbildung von Hinterköpfen war von 70% auf 54% gesunken. Dafür wurden bei beinahe der Hälfte aller positiven Fälle jetzt umfangreiche und vollkommene Rumpfe und Schwänze induziert.

Die Kombinationsfraktion Ko. I (mesodermal: neural = 1:1) rief noch 27% geringfügige Hinterkopfinduktionen hervor. Sie enthielten kleine, primitive Gehörbläschen. Gehirnteile fehlten vollständig. Ausserdem waren zusätzliche Kiemenspalten, Knorpelspangen und in einem Fall rudimentäre Kiemenstämmchen gebildet worden.

Die Hauptleistung dieser Fraktion waren Rumpf- und Schwanzbildungen (80%). Sie waren im allgemeinen nicht so umfangreich wie die grossen, vollständigen Rumpf-Schwanzinduktionen der Serie Ko. II und wie die mesodermalen Induktionen der Ausgangsfraktion E 351/5. Die Rumpfe enthielten Chorda und Muskulatur, einige auch Afterbildungen, aber nur 2 Rumpfe besaßen auch ein Neuralrohr.

Schwänzchen waren sehr häufig (12 Fälle). Aber nur 5 Schwänzchen enthielten Achsenorgane, und von diesen nur 3 ein mehr oder weniger gut ausgebildetes Neuralrohr. Die Schwänzchen ohne Achsenorgane waren nur mit lockerem Mesenchym angefüllt. Alle Schwänzchen besaßen gut ausgebildete Flossensäume.

Insgesamt waren hier nur recht selten und nur wenig umfangreiche Neuralgebilde induziert worden. Dagegen waren häufig Organe zu beobachten, die aus den Neuralwülsten stammen oder deren Induktion mit den Wülsten in Zusammenhang gebracht wird, so die oft das normale Mass überschreitende Zahl von Mesenchymzellen und Melanophoren, die Flossensäume der Schwänzchen (RAVEN 1931, 1936, DU SHANE 1935, HÖRSTADIUS 1950) und vor allem die „Mesenchymschwänzchen“ ohne Achsenorgane.

Die mesodermale Ausgangsfraktion E 351/5 schliesslich induzierte nur Rumpfbildungen (100%). Sie enthielten ausschliesslich mesodermale Organe, nämlich Chorda, Rumpfmuskulatur, Vornierenbildungen und einmal eine sekundäre Extremitätenknospe. Neuralorgane oder Abkömmlinge der Neuralwülste wie Flossensäume, Mesenchym und Melanophoren fehlten vollständig.

## D. DISKUSSION

Die Vermutung, dass bei der Induktion von komplexen Hinterköpfen und Rumpf-Schwanzbildungen zwei morphogenetische Faktoren zusammenwirken, wurde zuerst von LEHMANN (1950) geäußert. Diese Hypothese gewann für die Induktion vollständiger Schwänze mit Neuralrohr grosse Wahrscheinlichkeit durch die Ergebnisse, welche TOIVONEN und SAXÉN (1955) bei ihren schon erwähnten Kombinationsversuchen erzielten, und durch unsere eigenen Erfahrungen bei der Darstellung und Reinigung eines mesodermalen Induktionsfaktors aus Hühnerembryonen (TIEDEMANN 1959).

Bei den Kombinationsversuchen von TOIVONEN und SAXÉN (1955, 1961) nahmen auch die deuterencephalen Induktionen zu. Da aber bereits eine ihrer Ausgangsfaktionen eine deuterencephale Induktionskapazität besass, war der experimentelle Beweis für die Hinterkopfinduktionen nicht so klar. Auch bei den in dieser Arbeit mitgeteilten Kombinationsversuchen mit angereicherten Fraktionen induziert die neurale Komponente noch in ca. 35% der Fälle Hinterhirne und Gehörblasen. Sie waren aber meist nur klein und traten mengenmässig hinter den Vorderkopforgane weit zurück (Abb. 5). In der Kombinationsserie Ko. III (neur.: mes. = 50:1) wurden dagegen bei 70% der Fälle grosse Hinterhirne und Gehörblasen induziert, während hier die Vorderkopforgane zurücktraten. Das Ergebnis stützt also die Hypothese, dass der neurale und der mesodermale Faktor auch bei der Induktion von Hinterköpfen zusammenarbeiten.

Die Entstehung deuterencephaler oder spinocaudaler Bildungen hängt nach unseren Versuchen (s. Serien Ko. III und Ko. II) vom Mengenverhältnis der beiden Faktoren zueinander ab. Während eine grössere Menge des neuralen Faktors zusammen mit einer kleineren Menge des mesodermalen Faktors Hinterköpfe induziert, ruft eine grössere Menge des mesodermalen Faktors zusammen mit einer kleineren Menge des neuralen Faktors Schwänze hervor.

Besondere Beachtung verdienen die Ergebnisse der Serie Ko. I. Hier waren, nach Zugabe einer geringen Menge der neuralen Fraktion, neben mesodermalen Rumpforgane und sehr wenigen Neural-

organen vor allem Organe induziert worden, die sich von den caudalen Neuralwülsten ableiten. Neben Mesenchym, Melanophoren und Flossensäumen verdienen besonders die häufig auftretenden „Mesenchymschwänze“ Erwähnung. Sie enthielten keinerlei Achsenorgane, sondern nur lockeres Mesenchym und Melanophoren, wuchsen stets lang aus und besaßen Flossensäume. Sie glichen den Gebilden, die aus den caudalen Vierteln des Neuralwulstes nach ihrer Isolation im frühen Neurulastadium erhalten werden (H. TIEDEMANN, unveröff.). Offenbar können also auch die Derivate des Neuralwulstes durch eine Kombination der beiden Faktoren induziert werden. Eine gleichzeitige Induktion eines Neuralorgans scheint dabei nicht notwendig zu sein. Die Frage, unter welchen Bedingungen sie im einzelnen auftreten, bedarf aber noch der weiteren Klärung.

Über die wirklichen Konzentrationsverhältnisse der reinen Faktoren, welche zu deuterecephalen oder spinocaudalen Induktionen führen, geben unsere Versuche keine Auskunft. Sie wurden nicht mit reinen Faktoren, sondern mit mehr oder weniger angereicherten, neural oder mesodermal induzierenden Fraktionen durchgeführt.

Wie an anderer Stelle schon ausführlich erörtert wurde, enthalten die Induktionsstoffe nur einen kleinen Teil der Information, welche für die Gewebedifferenzierung insgesamt erforderlich ist. Sie setzen die Differenzierung nur in Gang. Die Ausführung hängt weitgehend von der genetischen Konstitution des reagierenden Gewebes ab (TIEDEMANN 1959, 1963a, b, YAMADA 1962).

Wie die Faktoren bei der Induktion von Organkomplexen tatsächlich zusammenwirken, ist noch gänzlich unbekannt. Es wäre denkbar, dass im experimentellen Fall, bei der Determination von Ectodermzellen durch ein homogenes Implantat, schon ein oder wenige Moleküle eines Induktionsfaktors genügen, um die Ectodermzelle „neural“ oder „mesodermal“ zu determinieren. Es würde dann vom Mengenverhältnis, daneben auch von einer möglicherweise verschieden schnellen Diffusion der beiden Faktoren abhängen, wieviele Zellen „neural“ und wieviele „mesodermal“ determiniert werden.

Die Ausbildung der Organeigenschaften ist dann wohl auf sekundäre Wechselwirkungen zwischen „neural“ und „mesodermal“ induzierten Zellen und Zellkomplexen zurückzuführen (s. auch

TIEDEMANN 1963a). Wahrscheinlich werden die „neural“ induzierten Zellen nicht direkt zu Vorderhirnzellen, Hinterhirnzellen und Zellen des Neuralrohrs determiniert. Vielmehr wäre es denkbar, dass z. B. aus dem neuralen Teil der Hinterkopfinduktionen dann ein Hinterhirn gebildet wird, wenn er mit den Anlagen für Kopfmesenchym und Kopfmuskulatur in Wechselwirkung tritt, die unter dem Einfluss des mesodermalen Faktors entstehen. In der Normogenese ist das Zusammenwirken der Organanlagen einfacher zu verstehen, da die verschiedenen Abschnitte des Zentralnervensystems von verschiedenen praesumptiven Organanlagen unterlagert werden.

Ausserdem muss noch berücksichtigt werden, dass die Segregation der Organanlagen und die mehr oder weniger harmonische und komplexe Ausbildung der Induktion wesentlich von der Gesamtgrösse des jeweils reagierenden Gewebeareals abhängt (LOPASHOV 1935, LEHMANN 1948, GROBSTEIN 1952, MUCHMORE 1957). Ob alle angelegten Areale dann auch realisiert werden, hängt ausser von der Arealgrösse auch von der Lage der Areale zueinander ab. Es ist denkbar, dass sehr kleine Organanlagen nicht realisiert werden. Diese Fragen bedürfen aber noch der weiteren experimentellen Klärung.

Die Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt. Wir möchten der Deutschen Forschungsgemeinschaft auch an dieser Stelle hierfür danken.

## ZUSAMMENFASSUNG

Eine angereicherte, archencephal-neural induzierende Fraktion (E 335/12) und eine angereicherte mesodermal induzierende Fraktion (E 351/5) wurden in verschiedenen Mengenverhältnissen durch Homogenisieren gemischt und im Einsteckversuch ausgetestet.

Die Kombinationsfraktion Ko. III (neural: mesodermal = 50:1) induzierte in 70% der positiven Fälle grosse Hinterkopforgane, daneben noch in 40% der Fälle kleinere Vorderkopfbildungen.

Die Kombinationsfraktion Ko. II (neural: mesodermal = 10:1) rief noch bei 8% der Fälle Vorderkopforgane hervor. Ihre

Hauptleistung waren grosse Hinterkopfinduktionen (54%) und Rumpf-Schwanzinduktionen (46%) mit Neuralrohr und den übrigen Achsenorganen.

Die Kombinationsfraktion Ko. I (neural: mesodermal = 1:1) rief noch 27% geringfügige Hinterkopfinduktionen hervor. Ihre Hauptleistung waren Rumpf-Schwanzinduktionen (80%). Sie enthielten mesodermale Rumpforgane, in wenigen Fällen auch ein Neuralrohr, vor allem aber Abkömmlinge der Neuralwülste. Häufig traten Mesenchymschwänze ohne Achsenorgane auf.

## RÉSUMÉ

Deux fractions enrichies en pouvoir inducteur, l'une archencéphalique (E 335/12) et l'autre mésodermale (E 351/5) ont été mélangées en diverses proportions et essayées par implantation dans le blastocèle.

La fraction combinée Ko. III (neurale-mésodermale = 50:1) a évoqué dans 70% des cas de grands organes deutérencéphaliques et dans 40% des cas de petites structures télencéphaliques.

La fraction combinée Ko. II (neurale-mésodermale = 10:1) n'a donné des structures télencéphaliques que dans 8% des cas. Elle a surtout évoqué de grosses parties deutérencéphaliques (54%) ainsi que troncales et caudales (46%) avec tube neural et autres organes troncaux.

La fraction combinée Ko. I (neurale-mésodermale = 1:1) a encore induit 27% de structures deutérencéphaliques insignifiantes. Elle a surtout évoqué des parties troncales et caudales (80%) avec dérivés chordomésoblastiques, dans quelques cas aussi avec tube neural, mais surtout avec dérivés des bourrelets médullaires. Il se développa souvent des queues mésenchymateuses sans organes chordomésodermaux.

## SUMMARY

Two fractions with enriched inductive ability containing archencephalic-neural (E 335/12) and mesodermal (E 351/5) factors respectively, were combined in different proportions and tested by means of implantation experiments.



The combination Ko III (neural: mesodermal = 50:1) yielded in 70% of the cases conspicuous deuterencephalic structures and in 40% of the cases small telencephalic structures.

From combination Ko II (neural: mesodermal = 10:1) there occurred small telencephalic structures only in 8% of the cases. Most frequent were big deuterencephalic (54%) and spino-caudal inductions (46%) with a neural tube and other axial structures.

Combination Ko I (neural: mesodermal = 1:1) merely produced insignificant deuterencephalic structures (27%). The main effect consisted in spino-caudal inductions (80%) with mesodermal trunc structures, including occasionally a neural tube, most commonly, however, derivatives of the neural crest. In many cases mesenchymal tails without axial structures were obtained.

#### LITERATURVERZEICHNIS

- CHUANG, H. H. 1938. *Spezifische Induktionsleistungen von Leber und Niere im Explantationsversuch*. Biol. Zentralbl. 58: 472-480.
- 1939. *Induktionsleistungen von frischen und gekochten Organteilen (Niere, Leber) nach ihrer Verpflanzung in Explantate und verschiedene Wirtsregionen von Tritonkeimen*. Roux' Arch. Entw. Mech. Org. 139: 556-638.
- DU SHANE, G. P. 1935. J. exp. Zool. 67.
- GROBSTEIN, C. 1952. *Effect of fragmentation of mouse embryonic shields on their differentiative behaviour after culturing*. J. exp. Zool. 120: 437-456.
- HOLTFRETER, J. 1934. *Über die Verbreitung induzierender Substanzen und ihre Leistungen im Tritonkeim*. Roux' Arch. Entw. Mech. Org. 132: 307-383.
- 1936. *Regionale Induktionen in xenoplastisch zusammengesetzten Implantaten*. Roux' Arch. Entw. Mech. Org. 134: 466-550.
- HÖRSTADIUS, S. 1950. *The neural crest*. Oxford University Press.
- LEHMANN, F. E. 1948. *Realisationsstufen in der Organogenese als entwicklungsphysiologisches und genetisches Problem*. Arch. Julius-Klaus-Stiftg. Vererbungsforsch. Sozialanthropol. u. Rassenhyg. 23: 568-573.
- 1950. *Die Morphogenese in ihrer Abhängigkeit von elementaren biologischen Konstituenten des Plasmas*. Rev. suisse Zool. 57; Suppl. 1: 141-151.
- LOPASHOV, G. V. 1935. *Die Entwicklungsleistungen des Gastrulaectoderms in Abhängigkeit von Veränderungen der Masse*. Biol. Zbl. 55: 606-615.

- MANGOLD, O. 1923. *Transplantationsversuche zur Frage der Spezifität und der Bildung der Keimblätter*. Arch. Micr. Anat. 100: 198-301.
- 1933. *Über die Induktionsfähigkeit der verschiedenen Bezirke der Neurula von Urodelen*. Naturwissenschaften 21: 761-766.
- MUCHMORE, W. B. 1957. *Differentiation of the trunk mesoderm in Amblystoma maculatum*. II. Relation of the size of presumptive somite explants to subsequent differentiation. J. exp. Zool. 134: 293-310.
- RAVEN, Chr. P. 1931. *Zur Entwicklung der Ganglienleiste*. I. Die Kinetik der Ganglienleistenentwicklung bei den Urodelen. Roux' Arch. Entw. Mech. Org. 125: 210-292
- 1936. *Zur Entwicklung der Ganglienleiste*. V. Über die Differenzierung des Rumpfganglienleistenmaterials. Roux' Arch. Entw. Mech. Org. 134: 122-146.
- SAXÉN, L. and TOIVONEN, S. 1961. *The two-gradient hypothesis in primary induction. The combined effect of two types of inducers mixed in different ratios*. J. Embryol. exp. Morphol. 9: 514-533.
- TIEDEMANN, H. 1959. *Neue Ergebnisse zur Frage nach der chemischen Natur der Induktionsstoffe beim Organisator-Effekt Spemanns*. Naturwissenschaften 46: 613-623.
- 1963a. *Biochemische Untersuchungen über die Induktionsstoffe und die Determination der ersten Organanlagen bei Amphibien*. in: „Induktion und Morphogenese“, Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg: 177-204.
- 1963b. *The role of regional specific inducers in the primary determination and differentiation of Amphibia*. in: „Biological Organization at the Cellular and Supercellular Level“. Academic Press, London and New York: 183-209. (Dort weitere Literatur).
- BECKER, U. und TIEDEMANN, H. 1963. *Chromatographic separation of a hind-brain inducing substance into mesodermal and neural inducing subfraktionen*. Biochim. Biophys. Acta 74: 557-559.
- KESSELRING, K., BECKER, U. und TIEDEMANN, H. 1962. *Über die Induktionsfähigkeit von Microsomen und Zellkernfraktionen aus Embryonen und Leber von Hühnern*. Develop. Biol. 4: 214-241.
- TOIVONEN, S. 1938. *Spezifische Induktionsleistungen von abnormen Induktoren im Implantatversuch*. Ann. Soc. zool.-bot. fenn. Vanamo 6, Nr. 5: 1-12.
- 1953. *Bone marrow of the Guinea pig as a mesodermal inductor in implantation experiments with embryos of Triturus*. J. Embryol. exp. Morph. 1: 97-104.

- TOIVONEN, S. und SAXÉN, L. 1955. *Über die Induktion des Neuralrohrs bei Trituruskeimen als simultane Leistung des Leber- und Knochenmarkgewebes vom Meerschweinchen*. Ann. Acad. sci. fenn. Ser. A, IV, 30: 1-29.
- YAMADA, T. 1961. *A chemical approach to the problem of the organizer*. Advanc. Morph. 1: 1-53.
- 1962. *The inductive phenomenon as a tool for understanding the basic mechanism of differentiation*. in: „*Specificity of cell differentiation and interaction*“. J. Cell. a. Comp. Physiol., Vol. 60, Suppl. 1: 49-64.
-



## The Effect of Actinomycin D on Primary Embryonic Induction<sup>1</sup>

by

**Sulo TOIVONEN, Tapani VAINIO and Lauri SAXÉN**

Laboratory of Experimental Embryology,  
Department of Physiological Zoology, University of Helsinki,  
Helsinki, Finland

With 4 text figures.

Actinomycin D, a chromopeptide discovered by VINING and WAKSMAN (1954) has proved to be a powerful analytical tool in studies of RNA synthesis. The observations of REICH *et al.* (1962) and HURWITZ *et al.* (1962) indicate that actinomycin D inhibits the synthesis of the entire complement RNA (nuclear, ribosomal and transfer). It does not, however, interfere with the turnover of terminal nucleotides and some recent studies have shown the existence of actinomycin-resistant RNA-synthesis in animal cells (PAUL and STRUTHERS, 1963).

Since RNA synthesis is intimately involved in cellular differentiation, actinomycin D has been employed by several workers in the field. There is some preliminary evidence in favour of actinomycin being capable of inhibiting neural differentiation in amphibian embryos (BRACHET and DENIS, 1962, DENIS, 1963). If applied to sea urchin eggs at early developmental stages, actinomycin interferes with uracil uptake and morphogenesis (GROSS and COUSINEAU, 1963). In this note we report upon some experiences gained in our laboratory with the use of actinomycin D as an inhibitor of primary embryonic induction.

---

<sup>1</sup> Supported by a PHS research grant, CA-05347, from the National Cancer Institute, U.S. Public Health Service, and by a grant from the Sigrid Jusélius Foundation, Helsinki, Finland.

In the pilot experiments, the lines of BRACHET and DENIS (1962) were followed employing another species, *Triturus vulgaris*. Either whole, uncoated young gastrulae or "sandwich"-type explants were treated in an actinomycin solution, and subsequently their morphogenesis was followed microscopically. Whole gastrulae were cultivated for 15 days in concentrations ranging from 1 to 20  $\mu\text{g/ml}$  of actinomycin D, and normal development was obtained in most cases. Only 9 malformed larvae were obtained in the series of 75 embryos and these were randomly distributed between the batches kept in different concentrations and thus were hardly due to the drug applied.

Subsequently, the gastrula ectoderm was exposed to actinomycin D in experiments where the explantation technique was employed. 6-12 hours treatment of the explants in concentrations of 0.5 to 2.5  $\mu\text{g/ml}$  did not affect the morphological differentiation. Microscopical analysis of 15 cases treated in this way, yielded a normal spectrum of induced organs.

The obvious discrepancy between these observations and the results of BRACHET and DENIS (1962) may find their explanation in differences in the penetration of the drug into the ectodermal cells of the different species used. When explants of *Triturus vulgaris* were tested for their capacity to incorporate  $\text{H}^3$ -uridine, the uptake proved to be very poor and completely independent of the presence of actinomycin D employed at a concentration of 10  $\mu\text{g/ml}$ . This poor penetration may furthermore, explain some of our earlier results. In a previous report we have stated that 5-fluorouracil effectively inhibits neural induction (TOIVONEN *et al.*, 1961), but recent, identical experiments with 5-fluorouridine have yielded negative results (unpublished). Hence, in the recent studies disaggregated cells have been exposed to actinomycin and/or uridine to obtain a better incorporation, and, possible a better effect.

## METHOD

The competent ectoderm of young *Triturus vulgaris* embryos was employed to make "sandwich"-type explants with guinea pig bone marrow as the inducer (TOIVONEN, 1954). After 24 hours when the induction was completed (TOIVONEN, 1958), the inductor

tissue was removed and the ectodermal pieces were disaggregated in Mg-free EDTA at pH 7.8 (JONES and ELSDALE, 1963). The disaggregated cell suspension was thereafter transferred to normal culture medium containing actinomycin D at various concentrations.

For morphological studies the reaggregated cells were transferred after 6 hours exposure to actinomycin D into normal culture medium, subsequently cultivated for 12 days at  $+18^{\circ}$ , sectioned and analyzed microscopically.

In the incorporation experiments, the cell suspension after disaggregation was transferred to a medium containing uridine  $H^3$  ( $0.2 \mu\text{C}/\text{ml}$ ) with or without actinomycin D ( $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ ). In the final experiments the time of incubation was 12 hours, after which the acid-insoluble RNA was determined using a liquid scintillation counter (I.D.L.). The ectodermal cells were disrupted in 20 per cent NaCl before treatment with 0.5 M perchloric acid. This was followed by absolute alcohol and hyamine hydroxide. For each determination 5 ectodermal explants were pooled.

Control explants were made without any inducing tissue, and subsequently treated identically with the sandwiches induced by bone marrow.

## RESULTS

*Morphology.* The first steps of development after transferring the cells to normal medium were similar in all actinomycin experiments and controls. The cells reaggregated in 3-4 hours forming a dense, ball-like cluster. In the control series and in the specimens treated by low concentrations of actinomycin D ( $0.005$ - $0.05 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) this cluster showed differentiation in a few days, and when analyzed after 12 days of cultivation, the spectrum of differentiated tissues was identical to the known inductive product of bone marrow. (Fig. 1).

When treated with actinomycin in concentrations of  $2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$  to  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$  the development was markedly different. After 24-36 hours the originally coherent reaggregated cell cluster disaggregated again and formed an irregular, pancakelike cell mass (Fig. 2). During the subsequent 10 days of cultivation no differentiation of these cells could be obtained, although they

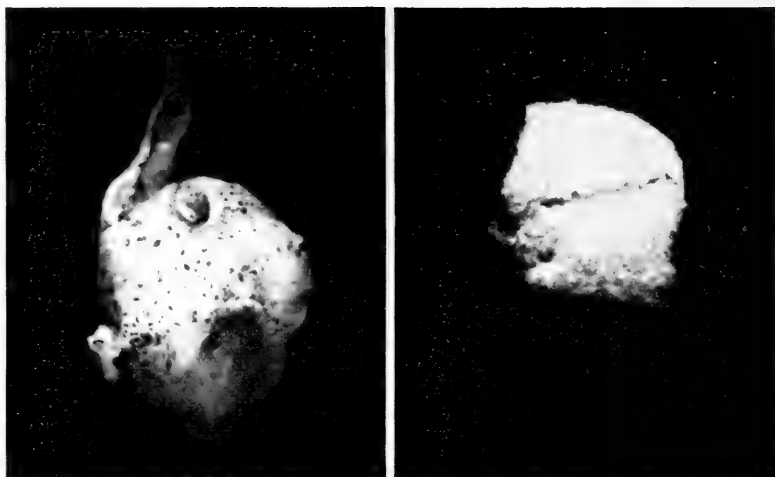


FIG. 1 and 2.

Two examples of actinomycin-treated ectodermal explants. Subsequent to induction by bone marrow the ectoderms were disaggregated and treated with actinomycin D in concentrations of 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (Fig. 1), and 2.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  resp. (Fig. 2). Differentiation of spinocaudal structures was noted in the explant treated with the low concentration whereas the higher concentration completely inhibited this morphogenesis. Samples were photographed after 12 days of cultivation.

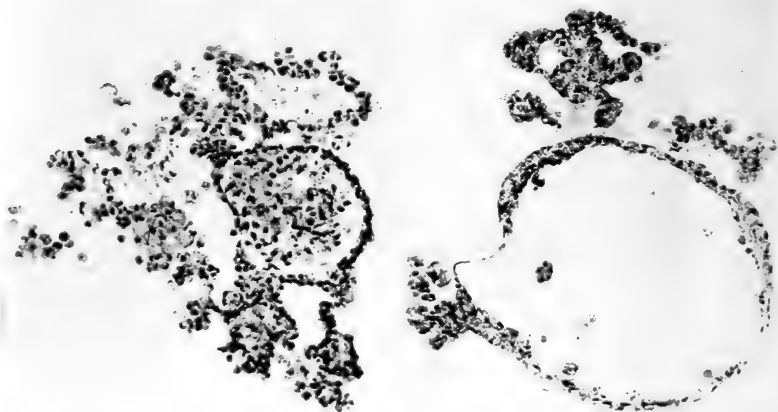


FIG. 3 and 4.

Two examples of ectodermal reaggregates previously treated with actinomycin D at a concentration of 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . The microscopical sections show some epidermal differentiation but no other structures. Fixed after 12 days of cultivation.



were obviously viable. (This was proved by neutral red incorporation as well as by incorporation experiments with leucine- $H^3$ ).

Specimens treated with actinomycin in a concentration 1  $\mu\text{g/ml}$  showed an intermediate development, where most of the cells become disaggregated and remained undifferentiated around a small denser nodule showing epidermis-like differentiation but no other structures (Figures 3 and 4). The results of the microscopical analysis are given in Table 1.

TABLE 1.

*Differentiation of actinomycin D-treated ectodermal explants.*

Concentration	Number of Survival Normal			No differ-Epidermal	
	explants	differentiation		entiation	differentiation
0.005 $\mu\text{g/ml}$	4	4/4	4/4	0	4/4
0.05 "	5	5/5	5/5	0	5/5
0.5 "	12	11/12	10/11	1	10/11
1.0 "	7	5/7	0	1/5	4/5 *
2.5 "	6	The cells show incorporation of neutral red and leucine- $H^3$ . Morphologically normal nuclei are seen as well as yolk granules after 12 days of cultivation. No differentiation can be noted.			
10.0 "	— 6				

\* Epidermal-like differentiation but no other formations.

*Uridine incorporation.* The results of the final incorporation experiments are given in Table 2.

TABLE 2.

*Incorporation of uridine  $H^3$  into disaggregated ectodermal cells from sandwiches induced by guinea pig bone marrow and the effect of actinomycin D on this incorporation.*

	Actinomycin D	Counts per min. *	
		Exp. 1	Exp. 2
Induced . . . . .	none	431	384
Induced . . . . .	10 $\mu\text{g/ml}$	213	120
Non-induced . . . . .	none	414	204

\* Per five sandwiches.

## COMMENT

The results presented above indicate that when brought into the disaggregated condition, the induced ectodermal cells are sensitive to actinomycin D, which, in concentrations from 1  $\mu\text{g/ml}$  seems to prevent cytodifferentiation. The primary effect morphologically observable is a secondary disaggregation of the previously dense reaggregate of the determined cells. The same concentrations of actinomycin do not effect the differentiation of whole gastrulae or explants prepared from the competent ectoderm. This difference may be due to the poor penetration of the drug into the coated cells as demonstrated in parallel experiments with labelled uridine. In the disaggregated form the incorporation is better, and here actinomycin D seems to interfere with the uptake of  $\text{H}^3$ -labelled uridine.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Einwirkung von Aktinomycin D auf die Differenzierung der Molchkeime (*Triturus vulgaris*) wurde untersucht.

Nach Disaggregation der mit Knochenmarkgewebe induzierten Ektodermexplantate wurde die Differenzierung der determinierten Zellen mit Aktinomycin (Konz. 1  $\mu\text{g/ml}$  und mehr) verhindert. Niedrigere Konzentrationen waren wirkungslos.

Die Ganzkeime und Ektodermexplantate differenzierten sich normal auch nach Behandlung mit höheren Konzentrationen (20  $\mu\text{g/ml}$  bzw. 2.5  $\mu\text{g/ml}$ ). Der Widerspruch dieser Resultate gegenüber denen von Brachet und Denis wird besprochen.

## RÉSUMÉ

L'action de l'actinomycine D sur la différenciation de l'embryon du Triton (*Triturus vulgaris*) a été étudiée.

Des explantats d'épiblaste, soumis à l'action inductrice de moelle osseuse, ont été désagrégés. La différenciation des cellules déterminées a ensuite été empêchée par l'actinomycine (concen-

tration 1  $\mu\text{g/ml}$  et plus). Des concentrations plus faibles n'ont eu aucun effet.

Les embryons entiers et les explantats d'ectoderme se différencient normalement même lorsqu'on les soumet à des concentrations supérieures (20  $\mu\text{g/ml}$  resp. 2,5  $\mu\text{g/ml}$ ). Les contradictions entre ces résultats et ceux de Brachet et Denis sont discutées.

## REFERENCES

- BRACHET, J. and DENIS, H. 1962. *Effects of actinomycin D on morphogenesis*. Nature 198: 205-206.
- DENIS, H. 1963. *Effet de l'actinomycine sur la différenciation nerveuse de l'ectoblaste chez les embryons d'amphibien*. Exp. Cell Res. 30: 613-615.
- GROSS, P. R. and COUSINEAU, G. H. 1963. *Effects of actinomycin D on macromolecule synthesis and early development in sea urchin eggs*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 10: 321-326.
- HURWITZ, J., FURTH, J. J., MALAMY, M. and ALEXANDER, M. 1962. *The role of deoxyribonucleic acid in ribonucleic acid synthesis, III. The inhibition of the enzymatic synthesis of ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid by actinomycin D and proflavin*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 48: 1222-1230.
- JONES, K. W. and ELSDALE, T. R. 1963. *The culture of small aggregates of amphibian embryonic cells in vitro*. J. Embryol. exp. Morph. 11: 135-154.
- PAUL, J. and STRUTHERS, M. G. 1963. *Actinomycin D-resistant RNA synthesis in animal cells*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 11: 135-139.
- REICH, E., FRANKLIN, R. M., SHATKIN, A. J. and TATUM, E. L. 1962. *Action of actinomycin D on animal cells and viruses*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 48: 1238-1245.
- TOIVONEN, S. 1954. *The inducing action of the bone-marrow of the guinea-pig after alcohol and heat treatment in implantation experiments with embryos of Triturus*. J. Embryol. exp. Morph. 2: 239-244.
- 1958. *The dependence of the cellular transformation of the competent ectoderm on temporal relationships in the induction process*. J. Embryol. exp. Morph. 6: 479-485.
- KOHONEN, J., SAUKKONEN, J., SAXÉN, L. and VAINIO, T. 1961. *Preliminary observations of the inhibition of neural induction by 5-fluorouracil*. Embryologia 6: 177-184.
- VINING, L. C. and WAKSMAN, S. A. 1954. *Paper chromatographic identification of the actinomycins*. Science 120: 389-390.
-



# Zur Entwicklung der xenoplastischen Augenchimären

von

**P. S. CHEN und A. FISCHER**

Zoologisch-vergl. anatomisches Institut der Universität Zürich<sup>1</sup>

Mit 13 Textabbildungen.

*Herrn Prof. Dr. F. Baltzer  
zum 80. Geburtstag gewidmet.*

Die Entwicklung des Wirbeltierauges zeigt ein eindrucksvolles Beispiel für das Prinzip der kombinativen Einheitsleistung (LEHMANN 1933). Dabei müssen zahlreiche morphogenetische Faktoren zusammenwirken, um ein normal gestaltetes und funktionsfähiges Organ zu bilden. Seit den Pionierarbeiten von SPEMANN (1901, 1905, 1912) sind zahlreiche Untersuchungen von verschiedenen Autoren durchgeführt worden, um die kausalen Beziehungen bei der Entstehung des Auges zu analysieren. Sie beschäftigten sich vor allem mit den folgenden Problemen: (1) die Determination der Augenbecheranlage, (2) die Induktion der Linse und Cornea, (3) das Wachstum des Auges und der zugehörigen Strukturen und schliesslich (4) das Regenerationsvermögen der Retina und Linse. Die früheren Ergebnisse haben MANGOLD (1931) und SPEMANN (1936) eingehend besprochen. Über die neueren Untersuchungen verweisen wir auf die zusammenfassenden Arbeiten von LOPASHOV und STROEVA (1961) und LOPASHOV (1963).

---

<sup>1</sup> Die vorliegende Arbeit wurde zum Teil durch die Unterstützung der Georges und Antoine Claraz-Schenkung ausgeführt.

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich hauptsächlich um neue Ergebnisse über die Entwicklung der xenoplastischen Augenchimären zwischen Anuren (*Hyla arborea*, *Bombina variegata*) und Urodelen (*Triturus alpestris*). Unsere Fragestellungen sind die folgenden:

Bereits bei den ersten Untersuchungen über die Induktion der Linse hat es sich gezeigt, dass die Linsenbildung nicht bei allen Amphibienarten vom Augenbecher abhängig ist. Selbst beim vollständigen Fehlen des Augenbeckers bilden sich bei einigen Arten (*Bombina variegata*, *Rana palustris*, *Rana fusca* und *Amblystoma punctatum*) die sogenannten Lentoide und bei anderen (*Rana esculenta*, *Xenopus laevis*) sogar voll ausdifferenzierte Linsen (siehe KÜHN 1955, BALINSKY 1954). Ebenfalls ist die Kompetenz der Linsenbildung nicht bei allen Amphibienarten gleich über die Epidermis verteilt. Offenbar sind bei der Linsenentwicklung ausser dem Augenbecher noch andere embryonale Gewebe und Organe beteiligt. Unsere Untersuchungen über den Normalverlauf der Augenentwicklung bei den drei verwendeten Amphibienarten sowie über die Entstehung der freien Linsen in den Chimären sollen einen Beitrag zum Problem der Linseninduktion leisten.

Besonders charakteristisch für die Augenentwicklung ist das korrelative Wachstum, d. h. die Regulation des Massenverhältnisses, zwischen Augenbecher und Linse. Aus seinen Transplantationsversuchen an Urodelen konnte ROTMANN (1939) beweisen, dass die durch den art- oder gattungsfremden Augenbecher induzierte Linse ihre arteigene Grösse beibehält und, in Übereinstimmung mit den früheren Befunden von HARRISON (1925, 1929), das weitere Wachstum des Augenbeckers tiefgehend beeinflusst. Andererseits wird der Augenbecher experimentell verkleinert oder vergrössert, so vermag sich die Linse der Augenbechergrösse anzupassen; ihre Regulation erreicht jedoch nicht das normale Massenverhältnis (ROTMANN 1942). Ähnliche Resultate erhielt neuerdings BALINSKY (1957) von seinen Defektsetzungs- und Transplantationsversuchen an verschiedenen Anurenarten. In der vorliegenden Arbeit untersuchen wir das Regulationsvermögen des Auges durch Austausch des präsumptiven Materials zwischen zwei Amphibienordnungen.

Ferner, wie die umfangreichen Arbeiten von BALTZER und seinen Mitarbeitern zeigen, erweist sich die xenoplastische Transplantation

als besonders geeignet, um das Homologieproblem experimentell zu prüfen (siehe BALTZER 1950, 1952; CHEN 1955b). Vom entwicklungsphysiologischen Standpunkt aus fragen wir uns, inwiefern das präsumptive Material des Auges durch entsprechendes ordnungsfremdes Gewebe ersetzt werden kann. Werden die Differenzierung und das Wachstum der Retina und Linse durch die ordnungsfremde Umgebung beeinflusst? Wie manifestiert sich die Unverträglichkeit in bezug auf die Augenbildung? Die histologischen Befunde der Augenchimären sollen uns darüber Auskünfte geben.

Im folgenden beschränken wir uns auf die Auswertung einiger typischer Fälle. Die genaue Beschreibung sowie die Ergebnisse der weiteren Versuchsserien sollen in einer späteren Publikation veröffentlicht werden.

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

### 1. BEMERKUNGEN ZUR NORMALEN AUGENENTWICKLUNG

Bevor wir auf die xenoplastischen Transplantationsversuche eingehen, sollen zunächst einige artspezifische Unterschiede in der normalen Augenentwicklung bei den drei verwendeten Amphibienarten kurz besprochen werden.

Bekanntlich verläuft schon die frühe Entwicklung vor der Neuralisation bei Anuren viel schneller als bei Urodelen. Im mittleren Neuralstadium finden wir die beiden Augenbecheranlagen bei *Triturus alpestris* als etwas stärker pigmentierte Zonen im vorderen Teil der Neuralplatte, direkt an die Neuralleiste angrenzend, von beiden Seiten her beinahe die Verlängerung der Neuralrinne berührend; sie sind median durch die Anlage der Sehnervenkreuzung verbunden. Die Linsenanlagen liegen ausserhalb des Neuralwulstes, beidseits im Winkel von  $45^\circ$  zur Neuralrinne. Die Augenbecheranlagen der Anuren erkennen wir als längliche, bei *Bombina variegata* stark, bei *Hyla arborea* nur schwach pigmentierte Zonen innerhalb der Neuralleiste. Sie liegen im vorderen Teil der Neuralplatte, etwas weiter auseinander als diejenigen der Urodelen. Der Neuralwulst zeigt an jener Stelle eine Einbuchtung. Etwas ausserhalb des Wulstes finden wir in dieser Einbuchtung die Linsenanlage.

Unsere Beobachtungen stimmen mit den von früheren Autoren mittels Vitalfärbung für andere Amphibienarten festgestellten Augenanlagen gut überein. (MANCHOT 1929, WOERDEMAN 1929, JACOBSON 1959). Es soll betont werden, dass die Augenanlagen im Neuralstadium noch keineswegs fest determiniert sind. Wie zahlreiche Explantations- und Transplantationsversuche bewiesen, ist die Augenbecherbildungstendenz im medianen Teil der Neuralplatte am stärksten; sie nimmt lateralwärts allmählich ab (Vgl. LOPASHOW und STROEVA 1961, S. 333). Auch in den vorliegenden Transplantationen, wie unten beschrieben wird, zeigen die Implantate überall grosses Regulationsvermögen, was den labilen Zustand des Anlagenmaterials bestätigt.

Nach unseren eingehenden histologischen Untersuchungen ist die embryonale Entwicklung des Auges bei einer Temperatur von 18° innert etwa 6 Tagen nach der Neurulation beendet. Während dieser Periode finden vor allem die Differenzierung der charakteristischen Zellschichten in der Retina und die Bildung des Faserkegels in der Linse statt. Bemerkenswert ist das unterschiedliche Entwicklungstempo zwischen den beiden Anurenarten: am 3. Tag nach der Neurulation erkennt man die Linsenbildung bei *Bombina* erst als eine Epidermisverdickung (Linsenplakode), während bei *Hyla* die Linsenblase bereits im Begriff ist sich abzuschnüren. Vom 5. Tag an beginnt sich aber die Entwicklung von *Bombina* zu beschleunigen und erreicht am 6. Tag das gleiche Stadium wie *Hyla*. Von nun an bleiben die Entwicklungsgeschwindigkeiten der beiden Arten ungefähr gleich, was den Differenzierungsgrad anbetrifft. Allerdings nimmt die Grösse von *Hyla* im Vergleich zu *Bombina* noch beträchtlich zu.

Grösser sind die Unterschiede zwischen den Anuren- und Trituruskeimen. Im Zeitpunkt, da die Hylakeime z. B. schon ihre Linsenplakode abzuheben beginnen, haben die Trituruskeime erst ihre Augenblasen ausgestülpt, ohne Anzeichen einer Retinaverdickung. Auch die weitere Differenzierung des Urodelenauges bleibt etwas mehr als einen Tag zurück. Während schliesslich Augenbecher und Linse von *Hyla* und *Bombina* nach dem 10. Tag nur noch sehr geringes Wachstum zeigen, nimmt der Augendurchmesser von *T. alpestris* im Verlaufe der nächsten 10 Tage nochmals um ca. 60% zu.



## 2. TRANSPLANTATION DES PRÄSUMPTIVEN AUGENBECHERMATERIALS

Operiert wurde im mittleren Neuralstadium. In diesem Stadium ist die Neuralplatte durch die leichte Erhebung der Neuralwülste von den übrigen Keimbereichen deutlich abgegrenzt. Es wurde das präsumptive Material des Augenbechers zwischen *Hyla* und *Triturus* bzw. zwischen *Bombina* und *Triturus* ausgetauscht (Abb. 1).

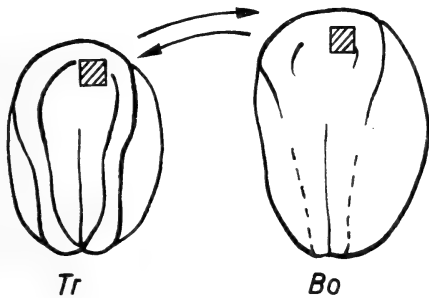


Abb. 1.

Operationsschema. Es wurde das präsumptive Augenbechermaterial im Neuralstadium zwischen *Triturus alpestris* (Tr) und *Bombina variegata* (Bo) ausgetauscht.

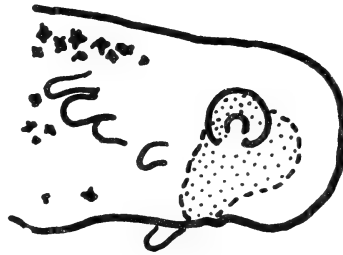


Abb. 2.

Fall VI 5. Trituruschimäre 5 Tage nach der Operation. Die Lage des implantierten *Bombina*-Augenbechermaterials ist durch das durchscheinende Vitalblau erkennbar (punktiert). Vergr. 21×.

Um die Implantate verfolgen zu können, wurden die Anurenkeime stets zu Beginn der Entwicklung mit Nilblausulfat intensiv gefärbt. Nach der Operation wurden die Keime bei 18° gehalten. Sämtliche Keime wurden in Zenker fixiert und die Schnitte mit Hämalaun und Eosin gefärbt.

Es zeigte sich, dass sich die Kombination Bombinaimplantat im Trituruswirt viel besser entwickelte als umgekehrt. Besonders ungünstig war die Kombination Triturusgewebe im Hylakeim. Das eingepflanzte Material wurde häufig ausgestossen oder in eine atypische Lage verschoben. Dies ist wohl durch das unterschiedliche Entwicklungstempo bedingt (siehe oben). Im allgemeinen bildet das Implantat entweder allein oder zusammen mit dem Wirtsgewebe einen Augenbecher. Im letzten Fall zeigt das Auge

verschiedene Grade der chimärischen Bildung. Im folgenden werden einige typische Fälle eingehend beschrieben.

Fall VI 5. Das präsumptive Augenbechermaterial einer *Bombina*neurula wurde ortsgemäss in einen Trituruskeim eingepflanzt. Am 5. Tag nach der Operation war das Implantat durch das durchschimmernde Vitalblau im rechten Augenbereich erkennbar; es dehnte sich ziemlich stark kranio-ventral aus (Abb. 2). Am 8. Tag

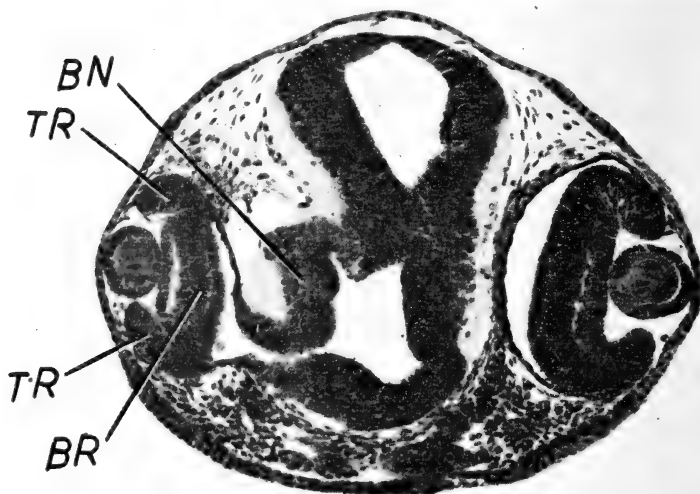


Abb. 3.

Fall VI 5. Querschnitt durch den Augenbereich der Trituruschimäre. Links im Bild sieht man den einheitlichen chimärischen Augenbecher, der teils aus *Bombina* (BR)-, teils aus Triturusretina (TR) besteht. BN = *Bombina*-Neuralzellen. Vergr. 77  $\times$ .

wurde der Keim fixiert. Die histologische Untersuchung ergab, dass das Implantat einen einheitlichen chimärischen Augenbecher bildet: der zentrale Teil der Retina besteht aus *Bombina*- und der periphere Teil aus Trituruszellen (Abb. 3). Im zentralen Teil erkennt man deutlich die Bildung der drei Zellschichten (Sinneszellen, Bipolarzellen und Ganglionzellen), während in der Peripherie noch keine Schichtung der Zellkerne sichtbar ist. Im Vergleich mit dem wirtseigenen Augenbecher auf der normalen Seite ist die Differenzierung der *Bombina*-Retinazellen eindeutig weiter fortgeschritten. Dieser chimärische Augenbecher induzierte aus der

Triturusepidermis eine Linse, die verhältnismässig gross ist: das Verhältnis Linse zu Augenbecher beträgt 0,38 auf der operierten Seite und 0,29 auf der Kontrollseite. Wie aus Abbildung 3 ersichtlich ist, besteht ein kleiner Teil des Wirtsgehirns aus Bombinazellen, deren Differenzierung durchaus normal erscheint.

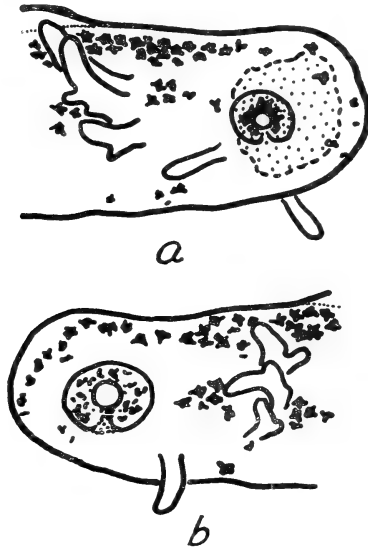


Abb. 4.

Fall VI 7. Trituruschimäre 9 Tage nach der Operation. *a* Operierte Seite mit dem kleinen chimärischen Auge; *b* Kontrollseite mit dem grossen wirts-eigenen Auge. Vergr. 18  $\times$ .

Fall VI 7. Transplantation des *Bombina*-Augenbechermaterials in eine Triturusneurula; Fixierung 9 Tage nach der Operation. Bereits äusserlich sieht man, dass das Auge auf der operierten Seite kleiner ist als das auf der normalen Seite (Abb. 4). Das Implantat bildet allein einen normalen Augenbecher, dessen Differenzierung, wie die Bildung der Sinneszellen und der inneren Retikularschicht zeigt, schneller verläuft als die des Wirtsauges (Abb. 5). Die zugehörige Linse, welche aus der Triturusepidermis entstand, hat eine nahezu normale Grösse, obwohl der Bombinaaugenbecher relativ klein ist. Der Linsen/Augenbecher-Index beträgt 0,43, gegenüber 0,37 des normalen Wirtsauges. Das Gehirn ist wiederum chimärisch; die Bombinazellen bilden aber ein eigenes Lumen.

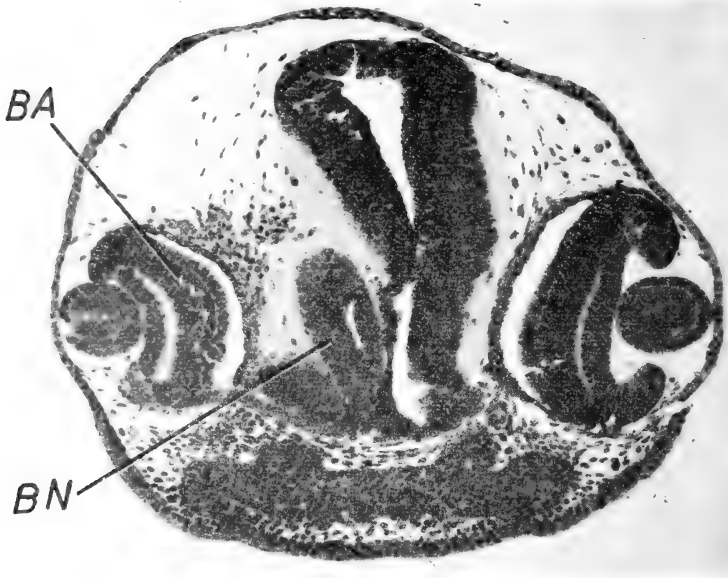


Abb. 5.

Fall VI 7. Querschnitt durch den Augenbereich der in Abb. 4 abgebildeten Trituruschimäre. Die Differenzierung des Bombinaaugenbechers (BA) ist deutlich weiter fortgeschritten als die des wirtseigenen Triturusaugenbechers auf der Kontrollseite. Die *Bombina*-Neuralzellen (BN) bilden ein eigenes Hirnlumen. Vergr. 77  $\times$ .

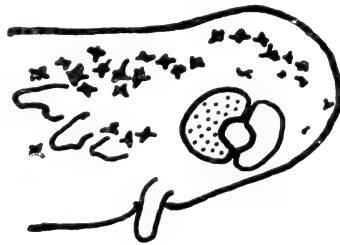


Abb. 6.

Fall VI 11. Trituruschimäre 8 Tage nach der Operation. Durch das Vitalblau erkennt man, dass der dorso-kaudale Teil des chimärischen Auges aus eingepflanztem Bombinamaterial besteht (punktiert), während der kranio-ventrale Teil den wirtseigenen Trituruszellen entstammt. Vergr. 21  $\times$ .

Fall VI 11. Transplantation wie vorher; Fixierung 10 Tage nach der Operation. Wie die Beobachtung am lebenden Keim zeigt, besteht der kranio-ventrale Teil des Auges aus Triturusmate-

rial, und der grössere, hintere Teil aus eingepflanztem Bombinamaterial (Abb. 6). Dies wurde durch die histologische Untersuchung der Schnittserie bestätigt. Die unterschiedliche Differenzierung der beiden Teile des chimärischen Augenbechers ist unverkennbar:

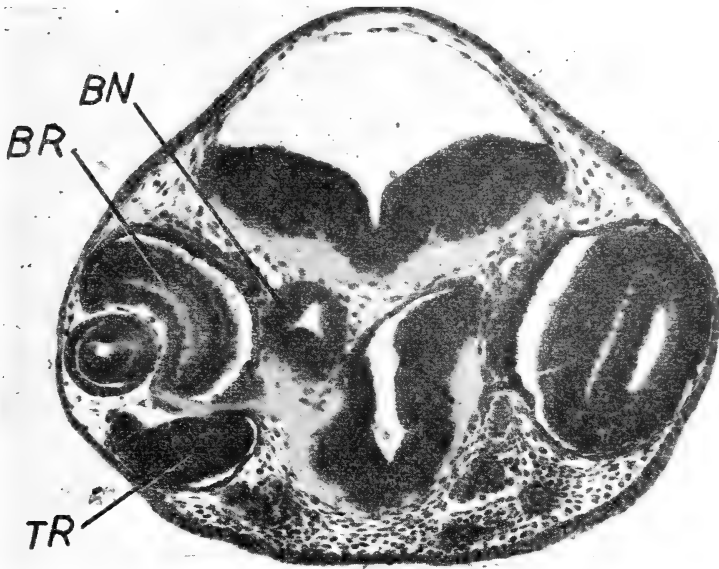


Abb. 7.

Fall VI 11. Der Trituruskeim wurde 10 Tage nach der Transplantation fixiert und histologisch untersucht. Der Querschnitt zeigt eindeutig die chimärische Zusammensetzung des linken Auges: oben Bombinaretina (BR) mit dem N. opticus und unten Triturusretina (TR). Daneben bildet sich ein kleines Gehirn aus *Bombina*-Neuralzellen (BN). Vergr. 76  $\times$ .

in der Bombinaretina sind die Stäbchen und Zapfen deutlich ausgebildet, und die Bipolar- und Ganglionzellen durch eine dicke Retikularschicht getrennt, während die Triturusretina sich noch in einem undifferenzierten Zustand befindet (Abb. 7). Aus dem Bombinateil entsteht der N. opticus, der direkt zum Gehirn läuft. Die verhältnismässig grosse Linse ist sehr wahrscheinlich durch das Implantat induziert (Linse/Augenbecher-Index 0,44). In der unmittelbaren Nähe des Implantats bildet sich ein kleines Bombinagehirn, welches klar vom Wirtsgehirn abgegrenzt ist.

Fall IV 13. Im vorliegenden Fall wurde das präsumptive Augenbechermaterial einer *Hylaneurula* an die entsprechende Stelle eines gleich alten *Triturus*keimes implantiert. Das Implantat bildet den unteren Teil des Wirtsauges und erstreckt sich etwas mehr ventral (Abb. 8). Aus der Untersuchung der Schnittserie ergibt sich, dass der Hyla- und *Triturus*augenbecher dicht neben einander liegen, deren Retinazellen deutlich durch das Pigmentepithel getrennt

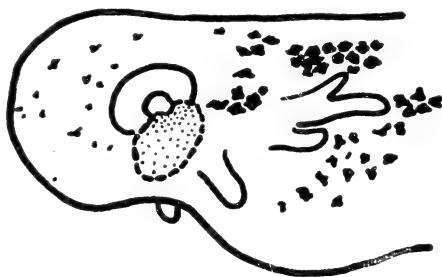


Abb. 8.

Fall IV 13. *Triturus*larve mit *Hyla*-Augenbechermaterial (punktiert). 7 Tage nach der Transplantation. Vergr. 21  $\times$ .

sind (Abb. 9). Interessant ist die übernormale Grösse der Linse, die sicher von Implantats- und Wirtsgewebe gemeinsam induziert ist.

Neben den eben beschriebenen vier Fällen haben wir zahlreiche Augenchimären anderer Versuchsserien untersucht. Sie zeigen übereinstimmend, dass sich das präsumptive Augenbechermaterial der beiden Anurenarten in einem Urodelenkeim herkunftsgemäss entwickelt. Dies ist besonders deutlich in der Differenzierung der Retina. Die Entwicklung des Augenbechers findet also autonom statt, und wird nicht durch die ordnungsfremde Umgebung beeinflusst. Das gleiche Ergebnis ergibt sich aus den Untersuchungen über die Bildung des Visceralskeletts (WAGNER 1949), Nervensystems (ROTH 1950, EYMAN 1957) und der Myotome (CHEN 1953, 1955a).

In den reziproken Transplantationen behält das *Triturus*-implantat ebenfalls seine arteigene Entwicklungsgeschwindigkeit bei. Es wurde aber häufig beobachtet, dass der wirtseigene Augen-

becher auf der operierten Seite, falls dieser überhaupt gebildet wurde, eine unregelmässige Anordnung der drei Zellschichten hat. Dies ist besonders der Fall bei der Kombination Triturusimplantat im Hylakeim. In seiner Untersuchung über die Regulation der Polarität der Retina hat EAKIN (1947) ähnliche Fälle bei *Hyla regilla* gefunden. Wie bereits erwähnt, verläuft die Augenbildung



Abb. 9.

Fall IV 13. Der Triturusaugenbecher (TA) und der Hyla-Augenbecher (HA) induzieren gemeinsam eine grosse Linse aus der Wirtsepidermis. Vergr. 116  $\times$ .

bei *Hyla arborea*, hauptsächlich in der frühen Entwicklung, besonders schnell. Es scheint, dass diese abnorme Differenzierung auf den fortgeschrittenen Determinationszustand der Augenanlage des Anurenkeimes zurückzuführen ist.

In den meisten Fällen entwickelt sich ein Teil des Implantats zu Neuralgewebe, welches mit dem wirtseigenen Material ein chimärisches Gehirn bildet. Da wir bei der Operation neben der Augenbecheranlage auch Material der Neuralplatte mitgenommen haben, ist dies verständlich. Durch den Augenbecherstiel oder die Bildung des N. opticus steht das chimärische Auge in direkter Verbindung

mit dem Wirtsgehirn. Allerdings beschränkt sich die Verbindungsstelle meistens auf den Bereich des fremden Hirngewebes.

Nach unseren bisherigen Resultaten induziert der Anurenaugenbecher ausnahmslos aus der Urodelenepidermis eine Linse, während das Umgekehrte nicht der Fall ist. In den von uns bisher untersuchten 20 Fällen, wo das Triturusmaterial in eine Anureneurula implantiert wurde, fanden wir, mit Ausnahme eines einzigen unsicheren Falles, keine Linsenbildung, obwohl die Entwicklung des Urodelenaugenbechers in jeder Hinsicht normal war. Dies kann dadurch erklärt werden, dass zur Zeit der Transplantation die Linsenkompetenz der Anurenepidermis infolge der schnelleren Entwicklung bereits verlorengegangen ist. Allerdings, wie unten beschrieben wird, wenn die Epidermis einer jungen *Bombina*neurula in einen Trituruskeim verpflanzt wurde, fanden wir gelegentlich noch Linseninduktion. Darauf werden wir noch zurückkommen.

Die durch die Anurenaugenbecher induzierten Trituruslinsen sind in ihrer Differenzierung und ihrem Wachstum durchaus wirtsgemäss. Charakteristisch ist ihre relative Grösse zum Augenbecher. Der mittlere Wert des Linse/Augenbecher-Index bei normaler Entwicklung ist 0,38 für *Hyla arborea*, 0,37 für *Bombina variegata* und 0,32 für *Triturus alpestris*; der entsprechende Wert beträgt 0,42 für die chimärischen Augen. Dies bedeutet, dass die Linse für den ordnungsfremden Augenbecher zu gross ist, und ihre Regulation den normalen Wert nicht erreicht (vgl. ROTMANN 1939, 1942).

Bei den Chimären, die älter als 13 Tage sind, fanden wir im Implantatsbereich degenerierte Zellen. Der Zerfall ist besonders auffallend im Neuralgewebe. Auch in der Retina sind häufig pyknotische Kerne und Phagocyten anzutreffen.

### 3. TRANSPLANTATION DER LINSENEPIDERMIS

In drei Versuchsserien wurde die Epidermis aus dem Linsenbereich der Neurula zwischen *Hyla* und *Triturus* oder zwischen *Bombina* und *Triturus* ausgetauscht. Die Operation erwies sich schwieriger als bei der Augenbechertransplantation, weil das Implantat infolge der starken Ausdehnung der Wirtsepidermis



oft von der ursprünglich eingepflanzten Lage verschoben wurde. Da wir bis jetzt noch nicht alle verfügbaren Fälle ausgewertet haben, sei nur ein typischer Fall eingehend beschrieben.

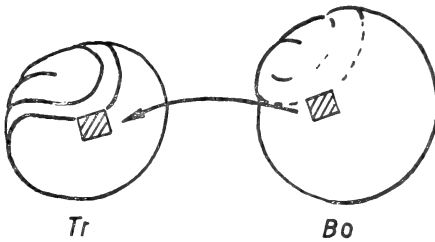


ABB. 10.

Fall VI 21. Transplantation der Linsenepidermis einer jungen Bombinaneurula an die entsprechende Stelle einer Triturusneurula.

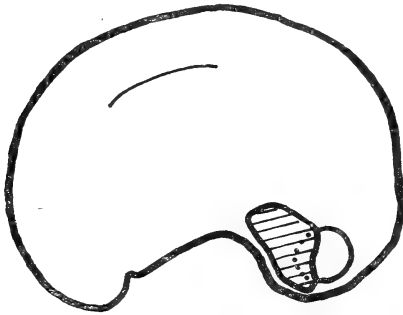


ABB. 11.

Fall VI 21. Lage der Bombinaepidermis (schraffiert) am Tag nach der Operation. Vergr. 21  $\times$ .

Fall VI 21. Es wurde ein Stück Epidermis aus der Linsenanlage einer jungen Bombinaneurula entnommen und in die Kopfseite einer mittleren Triturusneurula transplantiert (Abb. 10). Zur Zeit der Operation waren die Neuralwülste des Spenders nur schwach ausgebildet. Einen Tag später lag das Implantat ziemlich ventral; es deckte aber den unteren Teil des Wirtsauges (Abb. 11). Am 8. Tag wurde der Keim fixiert. Auf dem Querschnitt sieht man, dass der Triturusaugenbecher aus der wirtseigenen und der implantierten Epidermis je eine Linse induziert hat (Abb. 12). Die Bombinalinse ist wesentlich kleiner als die Trituruslinse; beide liegen dicht an

der Grenze zwischen Implantats- und Wirtsepidermis, und befinden sich im Stadium der Kegelbildung.

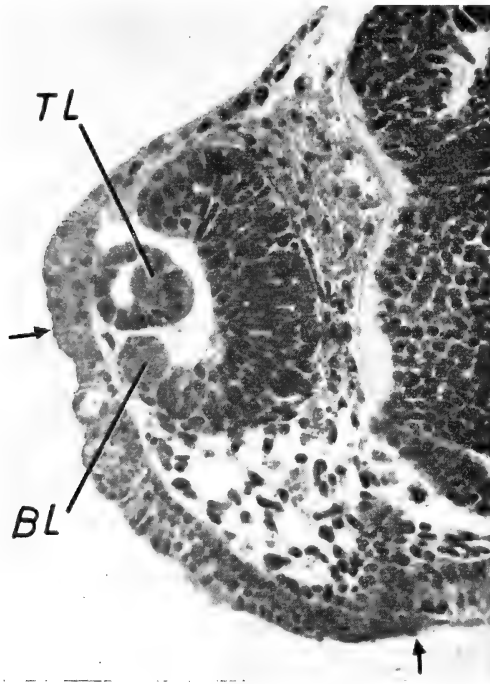


Abb. 12.

Fall VI 21. Querschnitt durch den Augenbereich der Trituruschimäre 8 Tage nach der Operation. Der Triturusaugenbecher induzierte aus der wirtseigenen und der implantierten Epidermis je eine Linse. TL = Trituruslinse, BL = Bombinalinse. Die Pfeile zeigen die Grenze zwischen Triturus- und Bombinaepidermis an. Vergr. 145  $\times$ .

Der vorliegende Fall erbrachte den Beweis, dass die Linsenbildungskompetenz der Epidermis bei *Bombina* bis zu Beginn der Neurulation noch nicht erloschen ist.

#### 4. DIE BILDUNG DER FREIEN LINSEN

Im Verlaufe unserer Untersuchungen fanden wir zwei Fälle, bei denen je eine freie, voll ausdifferenzierte Linse ohne direkte

Beziehung zum Augenbecher gebildet wurde. Der eine Fall ist in Abbildung 13 dargestellt. Dieser Keim stammt aus der Versuchsserie, wo das präsumptive *Triturus*-Augenbechermaterial in eine *Hylaneurula* eingepflanzt wurde. Bei der Schnittuntersuchung konnte jedoch kein Triturusmaterial festgestellt werden, ausgenommen einzelne degenerierte Zellen im Hirngewebe. Es wäre

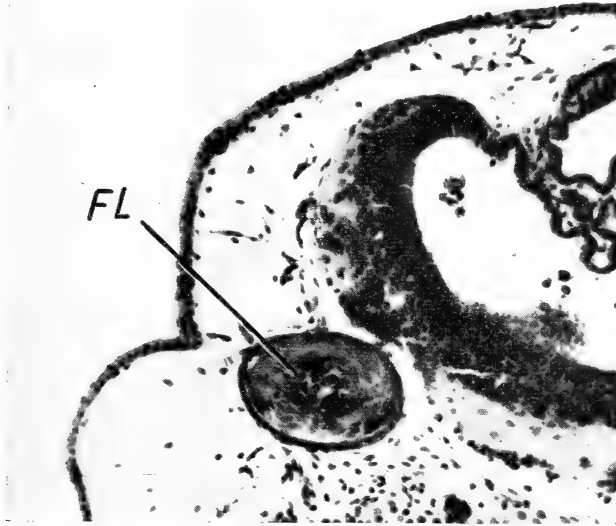


Abb. 13.

Fall IVa 10. Die Bildung der freien Linse (FL) in einer Hylachimäre 16 Tage nach der Operation. Vergr. 115  $\times$ .

möglich, dass der Triturusaugenbecher zuerst die Linse induzierte, und dann degenerierte. Da wir keine Spur von Pigmentepithel oder Retina in der Nähe der Linse fanden, scheint dies sehr unwahrscheinlich zu sein. Wie aus Abbildung 13 ersichtlich ist, liegt die Linse im Mesenchym, dicht neben dem Wirtsgehirn. Im hinteren Kopfbereich befindet sich ein kleiner Hylaaugenbecher, in der Hirnwand eingeklemmt. Nach der Lage und dem Differenzierungsgrad scheint dieser ebenfalls keine direkte Beziehung zu der erwähnten Linse zu haben.

Die Bildung der freien Linsen wurde bereits von verschiedenen Autoren beobachtet (siehe SPEMANN 1936, TOIVONEN 1945, BECKER

1959, 1960). Über ihre Entstehungsweise besteht noch Unklarheit. Jedenfalls ist der Mechanismus der Linsenbildung wesentlich komplizierter, als man früher angenommen hat. Nach neueren Untersuchungen sind bei der Linsenbildung mindestens zwei komplementäre Induktoren beteiligt: das vordere Urdarmdach (Kopfmesoderm) und der Augenbecher (LIEDKE 1951, 1955; REYER 1958a, b; JACOBSON 1958; von WOELLWARTH 1961). Es findet zunächst die Aktivierung der Linsenbildungspotenz im Ektoderm durch die Unterlagerung des Kopfmesoderms während der Gastrulation und Neurulation statt (Tendenz A nach LEHMANN 1934). Erst nach dem Verschluss des Neuralrohres und bei der Ausstülpung der Augenanlagen erfolgt die weitere Stimulation durch den Augenbecher (Tendenz B nach LEHMANN 1934). Im allgemeinen ist keiner von den beiden Induktoren allein imstande, die Linsenbildung hervorzurufen. Bei denjenigen Fällen, wo die Linse eine unabhängige Differenzierung zeigt, ist offenbar der erste Induktionsreiz des Kopfmesoderms stark genug, um die Linsenentwicklung zu verwirklichen (vgl. TWITTY 1955). Ferner ist die Wirkung der beiden Induktoren von der Temperatur abhängig (TEN CATE 1953, JACOBSON 1955, von WOELLWARTH 1961). Dabei muss der Entwicklungszustand der reagierenden Epidermis auch berücksichtigt werden (BECKER 1960). In wiefern das Kopfmesoderm bei der Bildung der Linsen in den vorliegenden zwei Fällen beteiligt war, bleibt unentschieden, da wir ihre Vorgeschichte nicht kennen. Um abzuklären, unter welchen Umständen solche freie Linsen entstehen, sind weitere Transplantations- und Isolationsversuche nötig.

## ZUSAMMENFASSUNG

1. Untersuchungen der Augenchimären zwischen Anuren (*Hyla arborea*, *Bombina variegata*) und Urodelen (*Triturus alpestris*) zeigen verschiedene Grade chimärischer Bildung. In den besten Fällen bauen die beiden ordnungsfremden Gewebe einen einheitlichen Augenbecher auf, der eine Linse aus der Wirtsepidermis induziert.
2. Bei allen drei Amphibienarten ist die Bildung der Retina autonom: sie behält ihr arteigenes Differenzierungstempo bei, und wird nicht durch die ordnungsfremde Umgebung beeinflusst.

3. Die durch den ordnungsfremden oder chimärisch zusammengesetzten Augenbecher induzierte Trituruslinse ist zu gross für den Induktor; ihre Regulation erreicht nicht das normale Massenverhältnis zwischen Linse und Augenbecher.

4. In zwei Fällen wurde die Bildung von freien Linsen beobachtet. Diese liegen im Kopfmesenchym des Wirtes, und sind durchaus normal in ihrer Differenzierung.

### SUMMARY

1. Investigations on eye chimerae between Anura (*Hyla arborea*, *Bombina variegata*) and Urodela (*Triturus alpestris*) show different grades of chimeric formation. In the best cases embryonic tissues belonging to the two different orders form a uniform eye cup which induces a lens from the epidermis of the host.

2. In all three amphibian species the development of the retina is autonomous: it keeps its own species-specific rate of differentiation and will not be influenced by the environment belonging to a different order.

3. The *Triturus* lens induced by the foreign or chimeric eye cup is too large for the inductor; the regulation does not reach the normal value of the size ratio between lens and eye cup.

4. In two cases the formation of free lens was observed. Such lenses are located in the head mesenchyme of the host and appear perfectly normal in their differentiation.

### RÉSUMÉ

1. Les recherches faites sur les yeux transplantés à l'état d'ébauche présomptive entre Anoures (*Hyla arborea*, *Bombina variegata*) et Urodèles (*Triturus alpestris*) ont révélé plusieurs degrés de formations chimériques. Dans les meilleurs des cas, les deux tissus étrangers ont formé une vésicule optique uniforme qui a induit le cristallin dans l'épiderme de l'hôte.

3. Chez les trois espèces la rétine se forme d'une manière autonome: elle conserve son propre rythme de différenciation sans être influencée par l'entourage étranger.

3. Le cristallin induit par la vésicule chimérique est trop grand pour l'inducteur, de sorte que la régulation n'aboutit pas à des proportions normales entre le cristallin et la vésicule.

4. Dans deux cas, des cristallins libres se sont formés dans le mésenchyme cranial de l'hôte. Leur différenciation était parfaitement normale.

## LITERATURVERZEICHNIS

- BALINSKY, B. I. 1951. *On the eye cup-lens correlation in some south african amphibians*. *Experientia* 7: 180.
- 1957. *On the factors determining the size of the lens rudiment in amphibian embryos*. *J. Exp. Zool.* 135: 255.
- BALTZER, F. 1950. *Entwicklungsphysiologische Betrachtungen über Probleme der Homologie und Evolution*. *Rev. suisse Zool.* 57: 451.
- 1952. *Experimentelle Beiträge zur Frage der Homologie*. *Experientia* 8: 285.
- BECKER, U. 1959. *Die Bedeutung des reagierenden Gewebes für die Ausbildung von freien Linsengebilden bei Triturus vulgaris*. *Roux Arch.* 151: 188.
- 1960. *Untersuchungen über die Abhängigkeit der Linsenbildung von der Wirtsregion bei Triturus vulgaris*. *Roux Arch.* 152: 339.
- CHEN, P. S. 1953. *Die Entwicklung des Ursegmentmaterials von Bombinator im Tritonkeim (Transplantation im Gastrulastadium)*. *Rev. suisse Zool.* 60: 516.
- 1955a. *Xenoplastische Transplantation des Chorda- und Myotomaterials zwischen Triton alpestris und Bombinator pachypus im Gastrula- und Neurulastadium*. *Roux Arch.* 147: 634.
- 1955b. *Tierchimären und ihre Bedeutung in der Entwicklungsforschung*. *Vierteljahrschrift Nat. Ges. Zürich* 100: 232.
- EAKIN, R. M. 1947. *Determination and regulation of polarity in the retina of Hyla regilla*. *Uni. Calif. Pub. Zool.* 51: 245.
- EYMAN, H. 1957. *Weitere Untersuchungen an xenoplastischen Neuralchimären von Triton und Bombinator*. *Roux Arch.* 149: 267.
- HARRISON, R. G. 1925. *Heteroplastic transplantation of the eye in Amblystoma*. *Anat. Rec.* 31: 299.
- 1929. *Correlation in the development and growth of the eye studied by means of heteroplastic transplantation*. *Roux Arch.* 120: 1.

- JACOBSON, A. G. 1955. *The role of the optic vesicle and other head tissues in lens induction*. Proc. Nat. Acad. Sci. 41: 522.
- 1958. *The roles of neural and non-neural tissues in lens induction*. J. Exp. Zool. 139: 527.
- JACOBSON, C.-O. 1959. *The localization of the presumptive cerebral regions in the neural plate of the axolotl larva*. J. Embryol. exp. morph. 7: 1.
- KÜHN, A. 1955. *Vorlesungen über Entwicklungsphysiologie*. Springer-Verlag, Berlin.
- LEHMANN, F. E. 1933. *Das Prinzip der kombinatorischen Einheitsleistung in der Biologie, im besonderen in der experimentellen Entwicklungsgeschichte, und seine Beziehung zur Gestalttheorie*. Biol. Zbl. 53: 471.
- 1934. *Die Linsenbildung von Rana fusca in ihrer Abhängigkeit von chemischen Einflüssen*. Roux Arch. 131: 333.
- LIEDKE, K. B. 1951. *Lens competence in Amblystoma punctatum*. J. Exp. Zool. 117: 573.
- 1955. *Studies on lens induction in Amblystoma punctatum*. J. Exp. Zool. 130: 353.
- LOPASHOV, G. V. 1963. *Developmental Mechanisms of Vertebrate Eye Rudiments*. Pergamon Press, London.
- und STROEVA, O. G. 1961. *Morphogenesis of the vertebrate eye*. In *Advances in Morphogenesis*, Academic Press, New York.
- MANCHOT, E. 1929. *Abgrenzung des Augenmaterials und anderer Teilbezirke in der Medullarplatte; die Teilbewegungen während der Auffaltung (Farbmarkierungsversuche an Keimen von Urodelen)*. Roux Arch. 116: 689.
- MANGOLD, O. 1931. *Das Determinationsproblem III. Das Wirbeltierauge in der Entwicklung und Regeneration*. Erg. Biol. 7: 193.
- REYER, R. W. 1958a. *Studies on lens induction in Amblystoma punctatum and Triturus viridescens. I. Transplants of prospective belly ectoderm*. J. Exp. Zool. 138: 505.
- 1958b. *II. Transplants of prospective lateral head ectoderm*. J. Exp. Zool. 139: 137.
- ROTH, H. 1950. *Die Entwicklung xenoplastischer Neuralchimären*. Rev. suisse Zool. 57: 621.
- ROTMANN, E. 1939. *Der Anteil von Induktor und reagierendem Gewebe an der Entwicklung der Amphibienlinse*. Roux Arch. 139: 1.
- 1942. *Über den Auslösungscharakter des Induktionsreizes bei der Linsenentwicklung. Versuche mit experimentell verkleinerten bzw. vergrößerten Augenbechern bei Triton taeniatus*. Bio. Zbl. 62: 154.
- SPEMANN, H. 1901. *Über Korrelation in der Entwicklung des Auges*. Verh. anat. Ges. 15: 61.

- SFEMANN, H. 1905. *Über Linsenbildung nach experimenteller Entfernung der primären Linsenbildungszellen*. Zool. Anz. 28: 419.
- 1912. *Zur Entwicklung des Wirbeltierauges*. Zool. Jb. Physiol. 32: 1.
- 1936. *Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung*. Springer, Berlin.
- TEN CATE, G. 1953. *The Intrinsic Development of Amphibian Embryos*. North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
- TOIVONEN, S. 1945. *Zur Frage der Induktion selbständiger Linsen durch abnorme Induktoren im Implantatversuch bei Triton*. Ann. Zool. Soc. Fenn. Vamano 11: 1.
- TWITTY, V. C. 1955. *Eye*. In *Analysis of Development*. Saunders, Philadelphia.
- WAGNER, G. 1949. *Die Bedeutung der Neuralleiste für die Kopfgestaltung der Amphibienlarven. Untersuchungen an Chimären von Triton und Bombinator*. Rev. suisse Zool. 56: 519.
- WOERDEMAN, M. W. 1929. *Experimentelle Untersuchungen über Lage und Bau der augenbildenden Bezirke in der Medullarplatte beim Axolotl*. Roux Arch. 116: 220.
- WOELLWARTH, C. v. 1961. *Die Rolle des Neuralleistenmaterials und der Temperatur bei der Determination der Augenlinse*. Embryologia 6: 219.
-



# Der Sauerstoff-Verbrauch normaler und regenerierender Hydrocauli von *Tubularia*

par

**Pierre TARDENT**<sup>1</sup>

Zoologisches Institut der Universität Zürich

Mit 4 Diagrammen.

*Herrn Prof. Dr. F. Baltzer  
zum 80. Geburtstag gewidmet.*

## 1. EINLEITUNG

Unter den physikalisch-chemischen Faktoren, die den Regenerationsvorgang bei *Tubularia* (Hydrozoa) beeinflussen, spielt der Sauerstoff eine bedeutende Rolle (HYMAN 1926; BARTH 1937, 1938b, 1940a, 1940b, 1944). Partielle Anaerobiose (0.35—1 ccm O<sub>2</sub>/Liter) z. B. unterdrückt die Regeneration des Hydranthen vollständig, ohne die Vitalität des regenerierenden Stückes weiter zu beeinträchtigen (BARTH 1938), und bei Anwendung unterschiedlicher O<sub>2</sub>-Drucke kann eine Umkehrung der Polarität des regenerierenden Systems herbeigeführt werden (BARTH 1937). Diese

---

<sup>1</sup> Diese Untersuchungen wurden an der Zoologischen Station von Neapel mit der technischen Hilfe von Frl. G. FIORELLI durchgeführt. Mein Dank gilt dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung und dem Office of Naval Research (NONR (21(00), welche die Arbeit unterstützt haben. Herrn Prof. J. RUNNSTRÖM, danke ich für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Beobachtungen weisen auf die zwischen Regenerationsleistung und Stoffwechselaktivität herrschenden Beziehungen hin.

DRIESCH's Feststellung (1899, 1901), wonach das Regenerationspotential im Stielteil von *Tubularia* einem disto-proximalen Gradienten unterworfen ist, wurde seither des öftern bestätigt (MORGAN 1905, 1906; PEEBLES 1931; BARTH 1938a; STEINBERG 1954, 1955; TARDENT und TARDENT 1956 et al.). Sehr wenig wissen wir aber noch über die primären Faktoren, die diesem morphogenetischen Gradientensystem zugrunde liegen. Die einzigen bis heute festgestellten strukturellen Unterschiede zwischen distalen und proximalen Axialniveaus betreffen die gradientenmässige Verteilung der interstitiellen Zellen im Ektoderm des Hydrocaulus (TARDENT 1952, 1954). HYMAN (1926) und BARTH (1940c) haben ihrerseits beobachtet, dass der Sauerstoffverbrauch distaler Hydrocaulusfragmente, die sich durch eine hohe Regenerationsrate auszeichnen, grösser ist, als derjenige langsam regenerierender proximaler Abschnitte. Die Frage bleibt offen, ob derartige Messungen die gesamte oxydative Kapazität einer Axialregion erfassen oder ob sie nur einen momentanen metabolischen Funktionszustand derselben wiedergeben. Zur Prüfung dieser Alternativen haben wir die respirometrischen Untersuchungen von HYMAN (1926) und BARTH (1940c) mit verfeinerten Methoden wiederholt und gleichzeitig den Sauerstoffverbrauch von Axialstücken in Anwesenheit von 2,4-Dinitrophenol (DNP) bestimmt. Von DNP ist bekannt, dass es unter günstigen Bedingungen das gesamte respiratorische Potential eines Systems zu enthüllen vermag, indem es die oxydative Phosphorylierung entkuppelt (RONZONI und EHRENFEST 1936; SHACTER 1955; LÖW 1959; IMMERS und RUNNSTRÖM 1960 et al.). Relativ geringe Konzentrationen von DNP hemmen bei *Tubularia* den Regenerationsprozess und bewirken gleichzeitig eine sehr starke Erhöhung der Respirationsraten (TARDENT 1962a).

Die Arbeit befasst sich ausserdem mit der Phasenspezifität der Atmung im Laufe des normalen und mit Hydranthen-Extrakt gehemmten Regenerationsvorganges. Diese Untersuchung steht im Zusammenhang mit der Aufklärung des Wirkungsmechanismus des im Hydranthen von *Tubularia* nachgewiesenen regenerationshemmenden Faktors (FAULHABER und TARDENT 1959; TARDENT und EYMANN 1958, 1959).

## 2. MATERIAL UND METHODE

Der Sauerstoffverbrauch von normalen, behandelten und regenerierenden Hydrocaulusfragmenten von *Tubularia larynx* wurde mit der von HOLTER und LINDERSTRÖM-LANG (1943) entwickelten Micro-Methode bestimmt.

Die Stielteile (Hydrocauli) frisch gesammelter, von der Kolonie isolierter Polypen wurden zunächst durch sorgfältiges Abstreifen der äussersten Perisarcschicht von Epibionten befreit, in sterilem Meerwasser\* mehrmals gewaschen und in kleine zylindrische Fragmente von 1–1,2 mm Länge zerschnitten (Durchmesser 0.25–0.5 mm; Volumen 0.05–0.23  $\mu$ l). Die Dimensionen dieser Fragmente erforderte die Herstellung relativ grosser kartesischer Taucher, deren Gesamtvolumen zwischen 23.6 und 24.4  $\mu$ l schwankte (Abb. 1). Die Taucher wurden in regelmässigen Abständen mit Silicon-Dry-Film (General Electric Co.) ausgekleidet und vor Gebrauch mit destilliertem Wasser und Alkohol gewaschen. Je ein Hydrocaulusfragment wurde in einem Tropfen sterilen Meerwassers resp. DNP-Lösung oder Hydranthen-Extrakt mit einer geeichten Kapillarpipette auf den Grund des Tauchers gebracht. Das Gesamtvolumen dieser Probe betrug stets 2  $\mu$ l. Davon entfielen ca. 1/10 auf das Hydrocaulusstück 9/10, auf das Medium. Fig. 1 zeigt, wie der Hals des Tauchers verschlossen wurde.

In der zur Verfügung stehenden Anlage konnten gleichzeitig 6 manometrische Messungen durchgeführt werden, wobei ein

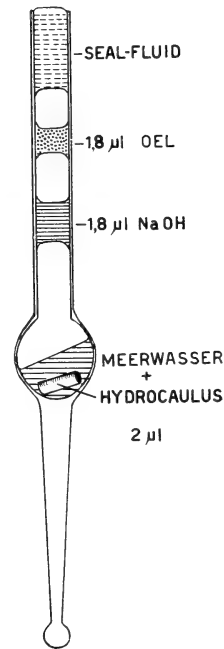


ABB. 1.

Beschickung der für die respiometrischen Untersuchungen verwendeten kartesischen Taucher.

\* Salinität 37‰; Sauerstoffgehalt 6.71–7.83 ccm  $O_2$ / Liter.

Taucher als Kontrolle stets nur mit dem flüssigen Medium beschickt wurde. Die manometrischen Ablesungen begannen in der Regel eine Stunde nach Beschickung der Taucher und erstreckten sich über 6 Stunden (Ablesungsintervall 1 Stunde; Temperatur 18° C).

Nach jeder Mess-Serie wurden die Hydrocaulusstücke sorgfältig aus den Tauchern gespült und für weitere Messungen im Meerwasser aufbewahrt oder äusserlich abgetrocknet und für die Bestimmung ihres Stickstoffgehaltes vorbereitet. Bei respiratorischen Messungen in Anwesenheit von DNP (Eastman und Kodak Co.) lag das Hydrocaulusfragment in einem Tropfen 0.1 mM DNP-Lösung (vergl. TARDENT 1962a). In ähnlicher Weise wurde bei der Behandlung mit Hydranthen-Extrakt vorgegangen. Dieser wurde zuerst mit Perchlorsäure deproteinisiert und bei 35.000 Umdrehungen zentrifugiert. Die überstehende Phase wurde sterilisiert und mit sterilem Meerwasser auf eine Konzentration von 4 Hydranthen/ccm verdünnt. Diese Extrakt-Konzentration hemmt den Regenerationsprozess vollständig (TARDENT und EYMAN 1958). Die Hydrocaulusfragmente waren während der ganzen Versuchsdauer der Wirkung dieses Extraktes ausgesetzt, der zur Verhinderung einer bakteriellen Infektion in regelmässigen Abständen erneuert wurde.

Da der Durchmesser der Hydrocauli von *Tubularia* individuellen und regionalen Unterschieden unterworfen ist, konnte das Volumen der isolierten Fragmente nicht konstant gehalten werden. Es schwankte zwischen 0.05 und 0.231  $\mu$ l. Die bestimmten Atmungswerte wurden nicht auf das Volumen der einzelnen Stücke, sondern auf deren Stickstoffgehalt bezogen ( $\mu$ l  $O_2$ /h/ $\gamma$ N). Die Bestimmung desselben erfolgte mit Hilfe der Ultra-Mikro-Kjeldahl-Methode (BOELL und SHEN 1954). Es war dabei unvermeidlich, dass auch der Stickstoff des metabolisch inaktiven Aussenskeletts (Perisarc) in diese Bestimmung miteinbezogen wurde.

Im Zusammenhang mit der Bestimmung von Respirationsraten verschieden grosser Stücke sei hier eine methodische Frage kurz abgeklärt: Jedes für die Messungen isolierte Hydrocaulusfragment hat zwei gegenüberliegende offene Schnittflächen, die je nach dem Durchmesser des Stückes verschieden gross sein können. Durch Kontraktion des Ektoderms und Ausscheidung einer feinen Perisarchaut werden diese Öffnungen ca. 1 Stunde nach erfolgter Amputation wieder verschlossen (TARDENT 1954). Da die übrige

Oberfläche des Stückes durch eine dicke acelluläre Perisareschicht geschützt ist, könnte man erwarten, dass der Gasaustausch vorzugsweise an den durchlässigeren offenen oder verheilten Schnittflächen erfolge. Erwartungsgemäss müsste dieser bei Stücken mit grossem Durchmesser ungehinderter erfolgen können als bei Fragmenten mit geringerem Durchmesser. In Übereinstimmung mit den Beobachtungen von MILLER, PHILPOTT und CHAFF (1961) haben wir aber durch vergleichende Messungen festgestellt, dass keine methodisch bedingte Korrelation zwischen Fragmentgrösse und Respirationsrate besteht.

### 3. RESULTATE

#### a) DER DISTO-PROXIMALE RESPIRATIONSGRADIENT NORMALER HYDROCAULI

Acht Hydrocauli aus verschiedenen Kolonien wurden auf die beschriebene Weise (S. 169) gereinigt und in je 10 Axialstücke (I—X) zerteilt, wobei abwechselungsweise ein kurzes und ein längeres Stück isoliert wurde. Die für die respirometrischen Bestimmungen reservierten kurzen Stücke, die 5 verschiedene Axialniveaus des Hydrocaulus repräsentieren, hatten eine Länge von 1—1.2 mm, während diejenige der Zwischenstücke je nach der totalen Länge des Hydrocaulus von Fall zu Fall variierte (Abb. 2).

Die Resultate dieser Versuchsserie sind in der Abb. 2 zusammengefasst. Es geht daraus deutlich hervor, dass das distalste Fragment (I) sich stets durch die höchste Respirationsrate auszeichnete, während das Basalstück (IX) immer wesentlich kleinere Werte lieferte. Der sich aus der Berücksichtigung aller 5 Axialniveaus ergebende disto-proximale Gradient ist nicht linear. Die Kurve verflacht sich stark im Mittelteil des Hydrocaulus, wo die zwischen den Stücken III, V und VII aufgetretenen Unterschiede statistisch nicht signifikant sind. Dieser Kurvenverlauf entspricht aber sehr gut demjenigen des ebenfalls nicht linear verlaufenden Regenerationsgradienten (TARDENT 1962b, Abb. 1).

Bei den Vergleichsmessungen zwischen normalen Axialstücken und solchen, die der Wirkung von 2.4-Dinitrophenol (0.1 mM) ausgesetzt waren, musste die Versuchsanordnung wie folgt ab-

geändert werden: Im distalen, mittleren und proximalen Bereich ein und desselben Hydrocaulus wurden je 2 benachbarte Fragmente isoliert. Das eine wurde in einer 0.1 mM DNP-Lösung in den Taucher gebracht, während die Respirationsrate des andern in normalem Meerwasser bestimmt wurde. Diese Anordnung erlaubt, einen direkten Vergleich zwischen benachbarten, aus dem gleichen Individuum stammenden Stücken. Die in Tabelle 1 zusammengefassten Resultate sind als Relativwerte aufzufassen, wobei die

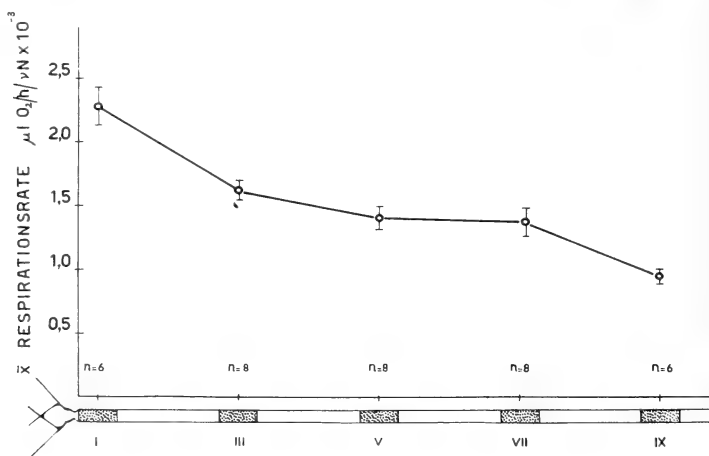


ABB. 2.

Durchschnittliche Respirationsraten (µl O<sub>2</sub>/h/γN) auf 5 verschiedenen Axialniveaus (I—IX) des Hydrocaulus von *Tubularia* (n = Zahl der Fälle).

TABELLE 1.

Relative Zunahme der Respirationsraten (µl O<sub>2</sub>/h/γN) auf je drei verschiedenen Axialniveaus von 4 einzelnen Hydrocauli verursacht durch die Behandlung mit 2,4-Dinitrophenol (0.1 mM). Die Werte sind in % auf diejenigen benachbarter Kontrollstücke (100%) bezogen.

Axialniveau	Serie DNP 10	Serie DNP 11	Serie DNP 13	Serie DNP 14
Distal . . . . .	185,4%	140,6%	168,6%	161,9%
Mitte . . . . .	131,7%	212,1%	120,4%	154,7%
Proximal . . . . .	154,9%	200,7%	181,8%	178,2%

Respirationsrate des behandelten Stückes stets auf diejenige der normalen Kontrolle (= 100%) bezogen wurde.

Die durch DNP verursachte Steigerung der Respirationsraten ist sehr unterschiedlich ausgefallen. Sie schwankt zwischen 120.4 und 212.1% und zeigt keine besonderen Gesetzmässigkeiten. Sie ist auf proximalen Axialniveaus nicht signifikant grösser als im distalen Bereich des Hydrocaulus. Auf die Bedeutung dieses Befundes werden wir in der Diskussion näher eingehen (S. 176).

#### b) DIE PHASENSPEZIFITÄT DER RESPIRATION IM VERLAUF DER REGENERATION

Isolierte Hydrocaulusstücke von 1.0—1.2 mm Länge regenerieren in den meisten Fällen kleine Hydranthen oder Teile derselben (TARDENT 1962b), indem sie die typischen Differenzierungsstadien durchlaufen (Fig. 3). Die durchschnittliche Regenerationsdauer solch kleiner Stücke liegt bei 72 Stunden. Das gleiche regenerierende Fragment wurde deshalb mehreren aufeinanderfolgenden manometrischen Messungen unterzogen. Nach jeder Messung wurden die Stücke aus dem Taucher herausgespült und in Flachschalen aufgehoben. Die gemessene Respirationsrate wird demjenigen Regenerations-Stadium zugeordnet, in dem sich das Regenerat während der Messung befand. Da Fragmente aus distalen Hydrocaulus-Regionen in der Regel unvollständige Regenerate liefern (TARDENT 1962b), isolierten wir für diese Versuchsreihe Fragmente aus dem Mittelteil des Hydrocaulus. Gelegentlich auftretende bipolare Regenerate wurden nicht berücksichtigt.

Die relativ starke Variabilität der absoluten Respirationsraten ( $\mu\text{l O}_2/\text{h}/\gamma\text{N}$ ) ist sehr wahrscheinlich auf den unterschiedlichen Ernährungszustand der Individuen zurückzuführen. Die während der verschiedenen Regenerationsphasen eines einzelnen Fragments registrierten Werte sind deshalb als % des ersten unmittelbar nach erfolgter Amputation gemessenen Wertes (100%) angegeben.

Wie Abb. 3 zeigt, sinkt die Respirationsrate des regenerierenden Hydrocaulusstückes zunächst auf einen durchschnittlichen Wert von 80% ab. Dieser in jedem Einzelfall beobachtete Abfall der Respirationskurve ist statistisch gesichert.

Kurz vor dem Erscheinen der Pigmentzone, die das erste makroskopische Anzeichen einer Regeneratsdifferenzierung dar-

stellt, steigt die Kurve wieder auf den Ausgangswert von 100% an. Von diesem Stadium an wird die Streuung der Werte zusehends grösser. Die die Durchschnittswerte verbindende Kurve fällt erneut etwas ab, aber dieser Abfall hat sich als statistisch nicht signifikant erwiesen.

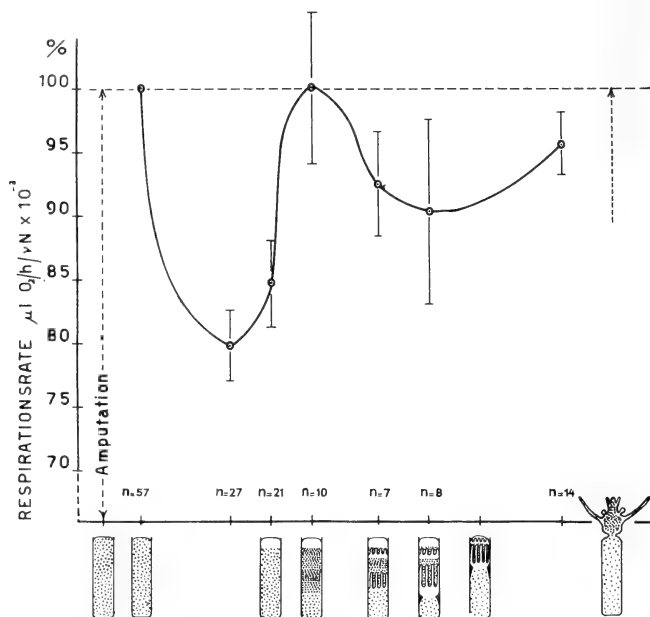


ABB. 3.

Phasenspezifität des Sauerstoffverbrauches im Laufe des Regenerationsprozesses. Die in jedem Regenerationsstadium registrierten Durchschnittswerte sind alle auf den Ausgangswert (100%) bezogen (Text S. 173).

### c) DER SAUERSTOFFVERBRAUCH VON TOTAL GEHEMMTEN REGENERATEN

Von zwei gleich grossen, aus dem Mittelteil des Hydrocaulus isolierten Fragmenten wurde das eine in normalem Meerwasser gehalten und das andere der hemmenden Wirkung von Hydranthen-Extrakt ausgesetzt (TARDENT und EYMANN 1958, 1959). Die respirometrischen Messungen wurden bei beiden Stücken gleichzeitig vorgenommen und dauerten so lange bis das Kontrollstück den Regenerationsprozess beendet hatte. Aus Gründen der individuellen



Streuung wurden die Resultate in Abb. 4 wiederum in relativen Werten angegeben, wobei die Respirationsraten der normalen Kontrollen in jedem Entwicklungsstadium als 100% angenommen wurden.

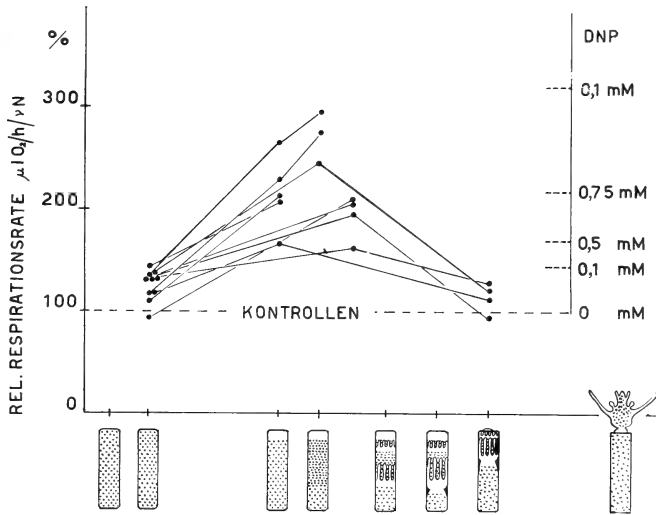


ABB. 4.

Relative Respirationsraten von Extrakt-gehemmten Regeneraten bezogen in % auf Kontrollmessungen an normalen Regeneraten (100%). Auf der rechten Abszisse sind diejenigen Konzentrationen von 2,4-Dinitrophenol angegeben, welche eine äquivalente Steigerung der Atmungsstärke verursachen (vergl. TARDENT 1962a).

Abgesehen von 2 Ausnahmen, lieferten alle mit Hydranthen-Extrakt total gehemmten Regenerate Respirationsraten, die höher waren als diejenigen der Kontrollen. Die Wirkung des Hemmfaktors äussert sich also in einer Erhöhung der respiratorischen Tätigkeit. 6 Stunden nach Amputation und Behandlungsbeginn liegt diese Erhöhung noch in einem zwischen 93 und 145% schwankenden Bereich, steigt aber bei anhaltender Behandlung weiterhin an und kann Werte von 300% erreichen. Dies bedeutet, dass der Sauerstoff-Verbrauch total gehemmter Regenerate dreimal grösser sein kann als derjenige normaler Regenerate. Dieser Zustand tritt dann ein, wenn bei den Kontrollen die Phase der Tentakeldifferenzierung beginnt. Nach Erreichen dieser Maximalwerte normalisiert sich die Atemtätigkeit der behandelten Stücke wieder teilweise.

Entgegen unserer Erwartungen wirkt der regenerationshemmende Hydranthen-Extrakt nicht hemmend auf die Atmung, sondern — ganz im Gegenteil — verursacht eine beachtliche Steigerung der oxydativen Vorgänge, ähnlich wie es bei Behandlung mit 2.4-Dinitrophenol der Fall ist (TARDENT 1962a).

#### 4. DISKUSSION

Aus den vorliegenden Resultaten dürfen wir schliessen, dass der lebende Anteil (Coenosarc) distaler Hydrocaulusregionen von *Tubularia larynx* eine metabolische Aktivität aufweist, die doppelt so gross ist wie diejenige basaler Regionen. Der Verlauf der Kurve, welche die respiratorische Tätigkeit verschiedener Axialniveaus des Hydrocaulus wiedergibt, entspricht sehr gut demjenigen des Regenerationspotentials (TARDENT 1962b) und der Verteilung der interstitiellen Zellen (TARDENT 1954) im gleichen System. Stets waren es die distalsten Fragmente, welche die höchste Respirationsrate lieferten. Sie entstammen der unterhalb des Hydranthen gelegenen Axialregion, in der unter normalen Bedingungen eine neue Regeneratsanlage schon praedeterminiert vorliegt (TARDENT 1962b), und in der die Regeneration des Hydranthen am raschesten verläuft.

Diese Befunde weisen auf eine enge Korrelation zwischen der respiratorischen Tätigkeit einer Hydrocaulusregion und dem ihr inherenten Regenerationspotential hin.

Die parallel dazu geführten Untersuchungen mit 2.4-Dinitrophenol haben die eingangs (S. 168) aufgeworfene Frage nur teilweise zu beantworten vermocht. Wir wissen nicht, ob die durch die Wirkung des DNP erzeugte Steigerung der oxydativen Tätigkeit der gesamten oxydativen Kapazität des Systems entspricht, oder ob diese durch die Behandlung nur teilweise enthüllt werden konnte. Die Resultate lassen aber vermuten, dass nicht nur die messbare respiratorische Aktivität, sondern auch das gesamte oxydative Potential des Coenosarcs von distal nach proximal abnimmt.

Aus dieser Feststellung ergibt sich die wichtige Frage, wie solche regionalen Unterschiede entstehen und sich erhalten können. Wir haben diese Erscheinung mit einem basipetalen Alterungsprozess des Zellmaterials in Zusammenhang gebracht (TARDENT 1963). Da das Längenwachstum der meisten Hydroidpolypen von einer

subterminalen Wachstumszone ausgeht (BRIEN 1953), ist zu erwarten, dass jene Zellen, die von dieser Bildungszone am weitesten entfernt liegen, physiologisch gesprochen, die ältesten Elemente darstellen. Dieser progressive Alterungsprozess könnte mit einer zunehmenden Einschränkung der metabolischen und morphogenetischen Fähigkeiten des Coenosarcs gleichbedeutend sein. Zur Stützung dieser Arbeitshypothese sind weitere Untersuchungen notwendig, so z. B. die Bestimmung der Inkorporationsgeschwindigkeiten von markierten Prekursoren oder die quantitative Verteilung der Mitochondrien entlang der Hydrocaulus-Achse.

Die Regeneration des Hydranthen aus Hydrocaulusfragmenten lässt sich nach rein makroskopischer Beurteilung in verschiedene Phasen aufteilen (TARDENT und EYMANN 1959), die sich aber — auf mikroskopischer und submikroskopischer Ebene — nicht scharf voneinander abgrenzen lassen. Weder die Determinations- noch die Differenzierungsvorgänge verlaufen in der ganzen Regenerationsanlage synchron (ROSE 1955, 1957). Es fällt deshalb schwer, die Phasenspezifität der mit diesen Teilprozessen verbundenen physiologischen und biochemischen Äusserungen klar zu fassen (FAULHABER und TARDENT 1959). Die grossen Streuungen — wie sie bei der Bestimmung der Respirationsraten während des Regenerationsvorganges (Abb. 3) auftraten — sind sehr wahrscheinlich auf diesen Umstand zurückzuführen. Mit Ausnahme des vorübergehenden geringfügigen Rückgangs der Respiration am Anfang des Prozesses konnten während der restlichen Regenerationsphasen keine weiteren Veränderungen des Respirationsverlaufs beobachtet werden. Die Veränderungen bewegen sich alle in einem relativ kleinen Bereich von höchstens 30%. Wir wissen allerdings nicht, welches die Respirationsrate von morphogenetisch inaktivem Coenosarcgewebe ist, denn jede Isolation von Hydrocaulusfragmenten, wie sie für diese Untersuchungen methodisch unvermeidlich ist, hat eine sofortige Auslösung des Regenerationsprozesses zur Folge. Es ist deshalb nicht ausgeschlossen, dass die registrierten Werte verglichen mit denjenigen ruhender Gewebe aus diesem Grunde a priori wesentlich höher liegen. Die methodischen Schwierigkeiten erlaubten es nicht, diese Frage abzuklären.

In früheren Untersuchungen haben wir uns schon mit der Frage der Wirkungsweise des im Hydranthen von *Tubularia* nachgewie-

senen Hemmfaktors befasst (TARDENT 1955, TARDENT und EYMANN 1958, 1959; FAULHABER und TARDENT 1959). Dieser körpereigene morphogenetische Kontrollfaktor vermag den Regenerationsvorgang teilweise oder total zu unterdrücken, ohne die Lebensfähigkeit des Regeneranten zu beeinträchtigen.

Wie aus den vorliegenden Untersuchungen klar hervorgeht (Abb. 4) weisen die seiner Wirkung ausgesetzten Regenerate im Vergleich zu den Kontrollen einen wesentlich höheren Sauerstoffverbrauch auf, der nach 48-stündiger Behandlung ein Maximum von 300% erreichen kann. Die Wirkung des Extraktes ist also sehr ähnlich derjenigen von 2,4-Dinitrophenol, das unter gleichzeitiger Hemmung des Regenerationsvorganges ebenfalls eine starke Steigerung der Atmung verursacht (TARDENT 1962a). Von DNP ist bekannt, dass es entkoppelnd in die oxydativen Vorgänge eingreift (RONZONI und EHRENFEST 1936; SHACTER 1955; Löw 1959 et al.). Die Parallelität der diesbezüglichen Wirkungen von Hydranthenextrakt und DNP mag eine rein zufällige sein; aber der Befund kann uns doch wertvolle Hinweise zum Problem des Wirkungsmechanismus der aktiven Extraktkomponente liefern, die ähnlich wie DNP in die oxydativen Prozesse des regenerierenden Systems einzugreifen scheint. Der nächste Schritt wird sein, den Einfluss von DNP und Hydranthen-Extrakt auf die oxydative Tätigkeit von Mitochondrienfraktionen zu prüfen.

## ZUSAMMENFASSUNG

1. Im Hydrocaulus von *Tubularia larynx* äussert sich die Rate des Sauerstoffverbrauches in Form eines disto-proximalen Axialgradienten. Die durch 2,4-Dinitrophenol verursachte relative Erhöhung der Respirationsrate ist auf allen Axialniveaus des Hydrocaulus mehr oder weniger gleich.

2. Im Verlauf des Regenerationsvorganges, der zur Neubildung des Hydranthen führt, zeigen sich keine wesentlichen phasenspezifischen Veränderungen des Atmungsverlaufs. Bevor die morphologische Differenzierung des Regenerats einsetzt, fällt der durchschnittliche Atmungswert auf 80% des Anfangswertes und gleicht sich diesem wieder an, sobald die Differenzierungsphase einsetzt.

3. Hydrocaulusstücke, deren Regeneration mit Extrakt von Hydranthen vollständig gehemmt ist, zeichnen sich durch einen sehr hohen Sauerstoffverbrauch aus, der 300% des Kontrollwertes erreichen kann. Die Extrakt-Wirkung ist derjenigen von 2.4-Dinitrophenol sehr ähnlich.

### SUMMARY

1. The rate of  $O_2$ -uptake has been measured in small axial fragments of the hydrocaulus of *Tubularia larynx*. The respiratory activity expresses itself in a clear disto-proximal axial gradient. The relative increase of respiratory activity due to the uncoupling action of 2.4-Dinitrophenol is about the same in all axial fragments.

2. In stem pieces regenerating a hydranth the respiratory activity does not undergo drastic changes. During the early stages preceding the differentiation of the primordium, the respiratory curve drops to 80% of the initial value and returns to 100% as soon as differentiation initiates.

3. Regenerates the development of which is totally inhibited by deproteinised hydranth extract show a much higher rate of  $O_2$ -uptake reaching a maximum of 300% with respect to the controls. The effect is therefore similar to that observed when regenerates are exposed to the action of 2.4-Dinitrophenol.

### RÉSUMÉ

1. L'activité respiratoire a été mesurée le long de l'axe longitudinal de l'hydrocaule de *Tubularia larynx*. Elle se manifeste clairement dans un gradient disto-proximal. L'augmentation relative de l'activité respiratoire due à l'action du 2.4-Dinitrophénol est approximativement la même dans tous les fragments axiaux.

2. Au cours de la régénération de l'hydrante la respiration ne subit pas de grandes variations. Une diminution de la respiration, atteignant le 80% de la valeur initiale, se vérifie pendant les premiers stades du processus précédant la différenciation du régénérat. La respiration reprend à 100% lorsque la différenciation débute.

3. Les régénérats dont le développement est totalement inhibé par l'action de l'extrait d'hydrantes se distinguent des régénérats

normaux par une très forte augmentation de la respiration, pouvant atteindre le 300<sup>o</sup>. L'effet de l'extrait est donc comparable à celui obtenu avec du 2,4-Dinitrophénol.

### LITERATURVERZEICHNIS

- BARTH, L. G. 1937. *Oxygen as a controlling factor in the regeneration of Tubularia*. Biol. Bull. 73: 381.
- 1938a. *Quantitative studies of the factor governing the rate of regeneration*. Biol. Bull. 74: 155-177.
- 1938b. *Oxygen as a controlling factor in the regeneration of Tubularia*. Phys. Zool. 11: 179-186.
- 1940a. *The process of regeneration in Hydroids*. Biol. Rev. 15: 405-420.
- 1940b. *The role of oxygen in regeneration of Tubularia*. Biol. Bull. 79: 360.
- 1940c. *The relation between oxygen consumption and rate of regeneration*. Biol. Bull. 78: 366-374.
- 1944. *The determination of the regenerating hydranth in Tubularia*. Phys. Zool. 17: 355-366.
- BOELL, E. J. and SHEN, S. C. 1954. *An improved ultramicro Kjeldahl technique*. Exp. Cell Res. 7: 147-152.
- BRIEN, P. 1953. *La pérennité somatique*. Biol. Rev. 28: 308-349.
- DRIESCH, H. 1899. *Studien über das Regulationsvermögen der Organismen*. II. Roux' Arch. 9: 103-139.
- 1901. *Ergänzende Beobachtungen an Tubularia*. Roux' Arch. 11: 185-205.
- FAULHABER, J. und TARDENT, P. 1959. *Das Verhalten der freien Aminosäuren im Verlauf der normalen und gehemmten Regeneration bei Tubularia*. Rev. suisse Zool. 66: 295-308.
- HOLTER, H. und LINDERSTRÖM-LANG, K. 1943. *On the Cartesian diver*. Compt. Rend. Trav. Lab. Carlsberg, sér. Chim. 24: 334-478.
- HYMAN, L. H. 1926. *The axial gradient in Hydrozoa*. VIII. Biol. Bull. 50: 406-426.
- IMMERS, J. and RUNNSTRÖM, J. 1960. *Release of respiratory control by 2,4-Dinitrophenol in different stages of sea urchin development*. Developmental Biology, 2: 90-104.
- LOOMIS, W. F. and LIPMANN, F. 1948. *Reversible inhibition of the coupling between phosphorylation and oxidation*. J. biol. Chem. 173: 807.
- LOW, H. 1959. *On the mechanism of oxidative phosphorylation. A study of the phosphate adenosine triphosphate exchange reaction of isolated rat liver mitochondria*. Uppsala, Almqvist and Wiksells AB.

- MILLER, J. A., PHILPOTT, L. L. and CHAFF, C. L. 1961. *Oxygen uptake in short pieces of Tubularia stems*. Biol. Bull. 121: 398.
- MORGAN, T. H. 1905. *Polarity considered as a phenomenon of gradation of materials*. J. exp. Zool. 2: 495-506.
- 1906. *Hydranth formation and polarity in Tubularia*. J. exp. Zool. 3: 501-515.
- PEEBLES, F. 1931. *Some growth regulating factors in Tubularia*. Phys. Zool. 4: 1-35.
- RONZONI, E. and EHRENFEST, E. 1936. *The effect of Dinitrophenol on the metabolism of frog muscle*. J. biol. Chem. 115: 749-768.
- ROSE, S. M. 1955. *Specific inhibition during differentiation*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 60: 1136-1159.
- 1957. *Polarized inhibitory effects during regeneration in Tubularia*. J. Morph. 100: 187-206.
- SHACTER, B. 1955. *Interrelations in respiratory, phosphorylative and mitotic activities of Ehrlich ascites tumor cells: Influence of Dinitrophenol*. Arch. Biochem. Biophys. 57: 387-400.
- STEINBERG, M. S. 1954. *Studies on the mechanism of physiological dominance in Tubularia*. J. exp. Zool. 127: 1-26.
- 1955. *Cell movement, rate of regeneration and the axial gradient in Tubularia*. Biol. Bull. 108: 219-234.
- TARDENT, P. 1952. *Über Anordnung und Eigenschaften der interstitiellen Zellen bei Hydra und Tubularia*. Rev. suisse Zool. 59: 247-253.
- 1954. *Axiale Verteilungsgradienten der interstitiellen Zellen bei Hydra und Tubularia und ihre Bedeutung für die Regeneration*. Roux' Arch. 146: 593-649.
- 1955. *Zum Nachweis eines regenerationshemmenden Stoffes im Hydranth von Tubularia*. Rev. suisse Zool. 62: 289-294.
- 1962a. *The effect of 2,4-Dinitrophenol on the process of regeneration and respiration in Tubularia*. Exp. Cell Res. 27: 241-249.
- 1962b. *Morphogenetic phenomena in the hydrocaulus of Tubularia*. Pubbl. Staz. Zool. Napoli 33: 50-63.
- und TARDENT, R. 1956. *Wiederholte Regeneration bei Tubularia*. Pubbl. Staz. Zool. Napoli 28: 367-396.
- and EYMANN, H. 1958. *Some chemical and physical properties of the regeneration inhibitor of Tubularia*. Acta Embryol. et Morph. Exp. 1: 280-287.
- — 1959. *Experimentelle Untersuchungen über den regenerationshemmenden Faktor von Tubularia*. Roux' Arch. 151: 1-37.
- TWEEDELL, K. S. 1958. *Inhibitors of regeneration in Tubularia*. Biol. Bull. 114: 255-269.





# Die Adenosin-Nukleotide im Fettkörper des adulten Weibchens von *Leucophaea maderae* im Laufe des Sexualzyklus<sup>1</sup>

von

**M. LÜSCHER und M. WYSS-HUBER**

Abteilung für Zoophysiologie  
Zoologisches Institut der Universität Bern

Mit 1 Diagramm.

## EINLEITUNG

Die Weibchen der ovoviviparen Schabe *Leucophaea maderae* (F.) machen einen sich regelmässig wiederholenden Sexualzyklus durch (ENGELMANN 1957a). Nach der Adulthäutung werden die Corpora allata aktiv und lösen die Eireifung in den Ovarien aus. Bei der Ovulation gelangen die Eier in den Uterus und bleiben dort, bis die Embryonalentwicklung abgeschlossen ist. Während dieser Phase der Trächtigkeit bleiben die Corpora allata inaktiv. Nach der Geburt, bzw. dem Ausstossen des Eikokons, beginnt der Zyklus von neuem mit einer Eireifungsphase. SÄGESSER (1960) stellte charakteristische, mit dem Sexualzyklus korrelierte Veränderungen des Sauerstoffverbrauchs fest. Den höchsten Sauerstoffverbrauch beobachtete er kurz nach Beginn der Eireifung zu einer Zeit, da die Corpora allata noch nicht ihr grösstes Volumen erreicht haben. Durch Implantation aktiver Corpora allata in kastrierte Weibchen konnte deren Sauerstoffverbrauch signifikant gesteigert werden. Damit waren die Befunde von THOMSEN (1949) bestätigt, die bei

---

<sup>1</sup> Durchgeführt mit Hilfe eines Forschungskredits des Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

*Calliphora erythrocephala* eine Stimulierung des respiratorischen Stoffwechsels durch die Corpora allata nachgewiesen hatte. Überdies konnte SÄGESSER aus einem Vergleich der Sauerstoffverbrauchskurven des vorletzten und letzten Larvenstadiums zeigen, dass das den oxydativen Stoffwechsel beeinflussende Hormon der Corpora allata nicht mit dem Juvenilhormon identisch sein kann.

Da demnach der mindestens zum Teil durch die Corpora allata gesteuerte Energiestoffwechsel im Sexualzyklus von *Leucophaea* eine wesentliche Rolle spielt, war es von besonderem Interesse zu erfahren, ob die energiereichen Nukleotide im Laufe des Zyklus charakteristische Veränderungen zeigen und ob diese mit der Funktion der Corpora allata in Zusammenhang gebracht werden können. Da für Auf- und Abbaureaktionen des Stoffwechsels vor allem der Fettkörper verantwortlich sein dürfte und da die Hormone der Corpora allata Veränderungen im Fettkörper hervorrufen können (THOMSEN 1942, DAY 1943, PFEIFFER 1945, VOGT 1947), haben wir unsere Untersuchungen vorläufig auf dieses Organ beschränkt. Die vorliegende Arbeit berichtet über den Gehalt des Fettkörpers an Adenosin-Nukleotiden im Laufe des Sexualzyklus.

## MATERIAL UND METHODE

Die verwendeten Tiere stammten aus einer Zucht des Zoologischen Instituts Bern. Bei 26°C und ca 85% relativer Luftfeuchtigkeit wurden je 5-6 Weibchen und 1-2 Männchen in 1 Liter-Gläsern gehalten und mit Hundekuchen und Karotten gefüttert (ENGELMANN 1957b). In täglichen Kontrollen wurde der Zeitpunkt der Geburt bestimmt. Für die Versuche dienten fast ausschliesslich Tiere in der zweiten Eireifungs- oder Trächtigkeitsperiode. Wir untersuchten keine Tiere im ersten Zyklus, da dieser im zeitlichen Ablauf mit den folgenden nicht übereinstimmt.

*Herstellung der Extrakte.* Die Extraktion führten wir im Kühlraum bei 3°C durch. Die Tiere wurden kurz mit Chloroform narkotisiert, das Abdomen ventral längs eröffnet, mit Ringerlösung von 3°C die Hämolymphe weggespült und der ganze Abdominalraum mit Zellstoffwatte sorgfältig getrocknet. Anschliessend wurde möglichst rasch, in weniger als einer Minute, pro Tier ca 100 mg Fettkörper entnommen und in 0,3 ml fassenden Homogenisatoren

mit 0,1 ml einer 0,6 n Perchlorsäure vermischt. Dem Fettkörper haften stets einige Tracheenstücke an; allfällig mitgerissene Teile von Malpighi-Gefäßen oder Ovariolen wurden sorgfältig entfernt. Der herauspräparierte Fettkörper wurde in der Perchlorsäure gewogen, während einer Minute homogenisiert und drei Minuten bei 20 000 Umdrehungen zentrifugiert. Das Sediment wurde noch zweimal mit je 0,1 ml 0,4 n Perchlorsäure nachextrahiert und nach dem Zentrifugieren wurden die überstehenden Lösungen jeweils vereinigt.

*Chromatographie.* Vorversuche zeigten, dass mit Aktivkohle vorgereinigte Extrakte weniger fluoreszierende Verunreinigungen aufweisen und im Chromatogramm eine bessere Auftrennung der Nukleotidfraktionen ergeben als unbehandelte Extrakte. Nach der Methode von THRELFALL (1957) brachten wir deshalb den Perchlorsäureextrakt quantitativ auf 50 mg Aktivkohle Merck p. A. — Celite 535 — (1 : 1) in einer kleinen Säule von 2 mm Durchmesser auf. Die Perchlorsäure wurde mit 6 ml Wasser aus der Säule gewaschen und anschliessend die an die Kohle adsorbierten Nukleotide mit 2 ml 10% Pyridin (Merck, für Chromatographie) eluiert. Die Pyridinlösung wurde im Vakuum bei 50°C zur Trockene eingedampft, der Rückstand in 50 µl Wasser gelöst und davon 20—30 µl für die Chromatographie verwendet.

In den ersten Versuchen stellten wir Durchlaufchromatogramme dieses Extraktes auf Whatman Papier Nr. 1 her. System: Isobuttersäure—Ammoniak—Wasser—(66: 1: 33) (CRAMER 1958), Laufzeit 24—36 Stunden. Der Extrakt trennte sich nur unvollständig in 4—5 im UV absorbierende Flecken auf. Bei den langen Laufzeiten verloren die Flecken zudem an Schärfe.

RANDERATH (1961a, b, 1962) sowie RANDERATH und STRUCK (1961) berichteten über gute Auftrennung von Nukleotiden an nativer Cellulose oder Cellulose-Ionenaustauschern (DEAE, ECTEOLA) im Dünnschichtchromatogramm. Einige Versuche mit ECTEOLA-Schichten zeigten, dass bei nicht völlig ionenfreien Extrakten stets Unterschiede in der Auftrennung von Extrakt und Standardlösung auftreten. Dagegen ergab zweidimensionale Chromatographie an Schichten aus nativer Cellulose sehr gute Resultate. Wir verwendeten mit 0,1 n Salzsäure, 2,5% Ammoniak, Wasser, Äthylalkohol und Chloroform gereinigtes Cellulosepulver MN 300 (Macherey und Nagel, Düren, Deutschland). 10 g Cellulose wurden

mit 50 ml Wasser fünf Minuten kräftig geschüttelt und die Suspension mit dem Streichgerät der Firma CAMAG auf  $20 \times 20$  cm Glasplatten in einer Dicke von 0,3 mm aufgestrichen. Die angegebene Menge ergibt fünf Platten.

Wir chromatographierten in der ersten Richtung mit Isobuttersäure — Ammoniak — Wasser — (71,0: 1,2: 27,8) = System I, in der zweiten Richtung mit n-Propanol — Ammoniak — Wasser — (5,5: 3: 1,5) = System II. Der Fettkörperextrakt trennte sich dabei in bis zu 25 scharfe, im UV absorbierende Flecken auf.

*Bestimmung der Nukleotidkonzentrationen.* Im kurzwelligen Licht (Maximum bei 253,7 m $\mu$ ) einer Hanovia Chromatolite-Lampe wurden die Flecken auf der Cellulose-Schicht markiert, das Chromatogramm auf durchsichtiges Papier kopiert und auf nukleotidfreien Stellen der Schicht für jede Fraktion ein Fleck gleicher Grösse für den Blindwert aufgezeichnet. Rund um Nukleotidflecken und Blindwerte wurde mit einer an die Wasserstrahlpumpe angeschlossenen Kapillare etwas Cellulosepulver weggesogen. Nach Befeuchten mit einem Tropfen 95% Äthylalkohol (Merck, für UV-Spektroskopie) liessen sich die Flecken leicht mit einem feinen Spatel in die Mikrozentrifugengläser überführen. Das Cellulosepulver wurde in 0,3 ml 0,1 n Salzsäure suspendiert, einige Stunden stehen gelassen und anschliessend bei 20 000 Umdrehungen zwei Minuten zentrifugiert. In einzelnen Fällen wurde mit 0,002 n Natronlauge extrahiert. Da ATP\* in den Extrakten im Vergleich zu den übrigen Nukleotiden in relativ hoher Konzentration vorhanden war, extrahierten wir die entsprechenden Flecken und Blindwerte mit 0,9 ml 0,1 n Salzsäure oder 0,002 n Natronlauge. Im Zeiss Spektrophotometer M 4 Q II wurden in Quarz-Mikroküvetten (Schichtlänge 1 cm) die Extinktionen der überstehenden Lösungen bei 260 m $\mu$ , in mehreren Versuchen auch bei 250 und 280 m $\mu$  gemessen.

Die Blindwerte sind über die ganze Fläche des Dünnschichtchromatogramms gleichmässig niedrig. Einzig im Gebiet der fluoreszierenden Lösungsmittelfronten sowie einer ca 3 cm unterhalb der Front von System II auftretenden Fluoreszenzzone erhält man etwas erhöhte Werte, weshalb die Cellulose für die Blindwerte immer möglichst nahe bei den Nukleotidflecken entnommen wurde.

\* Abkürzungen: AMP = Adenosin-5'-monophosphat, ADP = Adenosin-5'-diphosphat, ATP = Adenosin-5'-triphosphat.

*Identifizierung der Nukleotide.* Zur Identifizierung der im Fettkörper vorhandenen Nukleotide verglichen wir deren Laufstrecken mit denjenigen von reinen Substanzen in den beiden Chromatographie-Systemen. Wir berechneten die Quotienten der Extinktionen 250/260 m $\mu$  und 280/260 m $\mu$  und nahmen UV-Absorptionsspektren in 0,1 n Salzsäure (pH 1) und in 0,002 n Natronlauge (pH 11) auf. Die Vergleichswerte für die reinen Substanzen entnahmen wir den Circulars OR-17 und OR-10 der Pabst Laboratories, Milwaukee, USA, sowie der Tabelle „Properties of Nucleic Acid Derivatives“ der Calbiochem, Los Angeles, USA.

Die bei 260 m $\mu$  gemessenen Werte wurden für die Adenosin-Nukleotide auf m $\mu$  Mole pro 100 mg Fettkörper umgerechnet. Den molaren Extinktionskoeffizienten von 14,65 für pH 1 erhielten wir aus den von Pabst publizierten Kurven.

*Statistische Auswertung.* Die statistische Prüfung der Mittelwerte bestimmter Zeitabschnitte erfolgte nach dem t-Test von „Student“. Mittelwerte sind mit der mittleren quadratischen Abweichung angegeben (LINDER 1951). Die eingezeichneten Kurven entsprechen dem gleitenden Durchschnitt.

*Kontrollversuche.* Die folgenden Experimente dienten der Prüfung der beschriebenen Methode:

- a) Wurde nur Perchlorsäure (0,4 n) auf eine Kohlesäule aufgebracht, dann wie ein Extrakt aufgearbeitet und chromatographiert, so zeigte das Chromatogramm keine im UV absorbierende Flecken.
- b) Verschiedene Mengen einer ATP-Lösung bekannter Konzentration wurden auf eine Celluloseplatte aufgetropft und im System II chromatographiert, anschliessend die Flecken mit 0,1 n Salzsäure wie angegeben extrahiert und die Extinktion bei 260 m $\mu$  gemessen. Wie die Tabelle 1 zeigt, lässt sich ATP über einen weiten Konzentrationsbereich beinahe quantitativ aus der Cellulose zurückgewinnen.
- c) Eine bekannte Menge ATP (26,5 m $\mu$  Mol) wurde zu einem Perchlorsäureextrakt von Fettkörper zugesetzt, die Mischung wie üblich aufgearbeitet, zweidimensional chromatographiert und ATP, ADP und AMP bestimmt. Parallel wurden im gleichen Extrakt, jedoch ohne ATP-Zugabe, dieselben Nukleotide gemessen. Aus der Differenz: Extrakt + ATP minus Extrakt

ohne Zusatz berechnete sich in 5 Versuchen die Rückgewinnung von ATP zu  $69,6 \pm 6,8\%$ ; berücksichtigt man auch das während des Versuches aus ATP entstandene ADP, so wurden  $73,8 \pm 7\%$  zurückerhalten. Die in Extrakten unter konstanten Bedingungen bestimmten Mengen dürften somit rund 70% der im Gewebe enthaltenen Nukleotide darstellen.

TABELLE 1.

*Mittelwerte aus 3 Bestimmungen.*

Eingesetztes ATP m $\mu$ Mol	Zurückgewonnenes ATP % der Ausgangskonzentration
33,2	96,3 $\pm$ 2,31 (2% als ADP)
3,32	94,3 $\pm$ 3,05
1,66	97,3 $\pm$ 3,51
0,41	90,6 $\pm$ 7,64

Zur genauen Kontrolle des Stadiums der Versuchstiere im Sexualzyklus bestimmten wir die Längen der in Ringerlösung herauspräparierten Oocyten in den Ovariolen bzw. der Eier im Kokon. Weiter bestimmten wir das Volumen der Corpora allata nach der von LÜSCHER und WALKER (1963) publizierten Methode; die verwendete Zählkammer hatte eine Tiefe von 0,10 mm.

## RESULTATE

ATP und AMP waren in jeder Beziehung mit den reinen Substanzen identisch, während die Extinktionsquotienten 250/260 m $\mu$  und 280/260 m $\mu$  für ADP etwas vom theoretischen Wert abwichen und auch die Spektren eine schwache Verunreinigung anzeigten.

Abb. 1 gibt die Werte für ATP und ADP während der ganzen Eireifungs- und Trächtigkeitsperiode. Die Werte für AMP sind sehr niedrig: 1—4 m $\mu$  Mol pro 100 mg Fettkörper. Sie lassen keine sicheren Veränderungen erkennen und sind deshalb nicht eingetragen. Die gefundenen ADP-Konzentrationen sind ebenfalls klein und zeigen nur geringe Schwankungen ohne Beziehung zum Sexualzyklus. Der Gehalt des Fettkörpers an ATP ist im Vergleich zu AMP und ADP hoch und zeigt eindeutige Veränderungen während

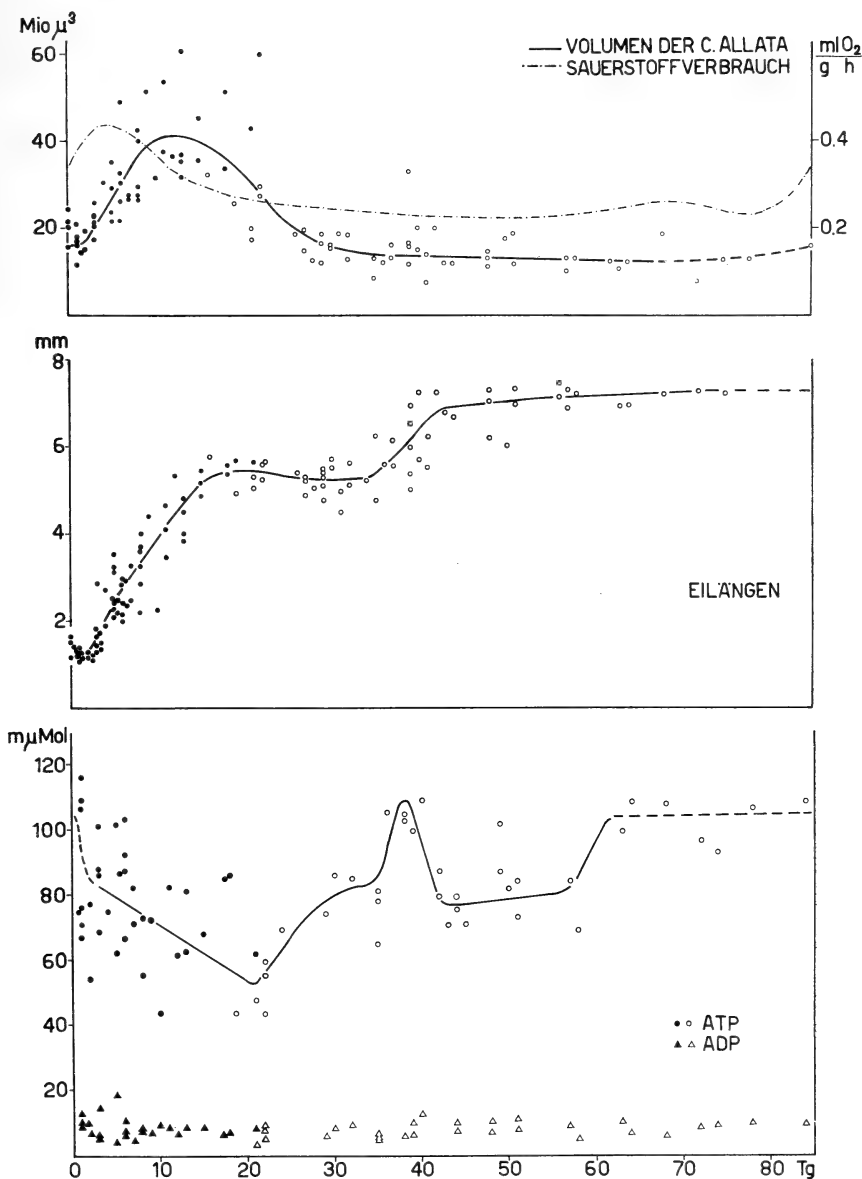


ABB. 1.

Oben: Sauerstoffverbrauch nach SÄGESSER und Corpora allata-Volumen (Punkte); Ordinate: Volumen in Millionen  $\mu^3$  und  $\text{O}_2$ -Verbrauch in ml pro g Lebendgewicht und Stunde. Abszisse: Tage nach Ablage.

Mitte: Länge der grössten Oocyten in den Ovariolen, bzw. der Eier im Kokon. Ordinate: Länge in mm. Abszisse: Tage nach Ablage.

Unten: Gehalt des Fettkörpers an ATP und ADP. Ordinate: Millimikromole pro 100 mg Fettkörper (Frischgewicht). Abszisse: Tage nach Ablage.

● ▲ vor Ovulation, ○ △ nach Ovulation.

bestimmten Stadien des weiblichen Sexualzyklus. Die relativ grosse Streuung der ATP-Werte innerhalb der Eireifungsperiode dürfte damit zusammenhängen, dass die Dauer dieser Phase von 15 bis 21 Tagen variiert. Trotzdem zeichnet sich am ersten Tag nach der Geburt ein sehr rascher, später ein verlangsamter Abstieg von der hohen ATP-Konzentration am Ende der Trächtigkeitsperiode zu tiefen Werten zur Zeit der Ovulation ab. Während oder kurz nach der Ovulation werden die niedrigsten Werte gemessen. Bis zum 35. Tag steigt die ATP-Konzentration dann langsam an, um in Tieren, deren Eier kurz vor oder nach der Wasseraufnahme stehen (ENGELMANN 1957b), den doppelten Ovulationswert zu erreichen. Nach dem 40. Tag nach Ablage fallen die Werte ebenso rasch zum Niveau des 30.—35. Tages ab. Die Unterschiede der Mittelwerte der vom 19.—22., vom 36.—40. und vom 42.—45. Tag gefundenen ATP-Konzentrationen sind statistisch mit  $P < 0,001$  gesichert. Bis gegen den 60. Tag bleibt der ATP-Gehalt des Fettkörpers ziemlich konstant, steigt dann an und bleibt bis zur Geburt auf einem hohen Niveau. Diese letzte Phase ist jedoch erst durch wenige Punkte belegt.

## DISKUSSION

Der Insektenfettkörper wird in Bezug auf seine Stoffwechselfunktion oft mit der Säugerleber verglichen. Für diese fanden HOHORST et al. (1959) einen Wert von 3,3 für den Quotienten ATP: ADP. Im *Leucophaea*-Fettkörper ist dieses Verhältnis stark zugunsten des ATP verschoben und entspricht mit rund 10:1 weitgehend dem von SCHMITZ (1961) im ruhenden Flugmuskel der Heuschrecke gefundenen Wert.

Die relativ grossen Änderungen im ATP-Gehalt werden nicht kompensiert durch eine gleichzeitige Zu- oder Abnahme der AMP- und ADP-Konzentrationen. ATP dürfte somit während der Eireifungsphase vollständig abgebaut und im späteren Verlauf des Zyklus neu synthetisiert werden.

Die Veränderungen im ATP-Gehalt während des Sexualzyklus möchten wir wie folgt interpretieren (vergl. Abb. 1): Während der Trächtigkeit benötigt das Insekt nur wenig Energie. In dieser Zeit wird ATP synthetisiert und damit die für die Dotterbildung



während der Eireifungsphase notwendige Energie bereitgestellt. Ganz zu Beginn der Eireifungsphase sinkt der ATP-Gehalt des Fettkörpers stark ab. Dies könnte mit einer zu dieser Zeit sehr aktiven Proteinsynthese im Fettkörper in Zusammenhang stehen, wie sie durch HIGHNAM (1963) bei Heuschrecken nachgewiesen wurde. Kurz darauf erreicht der Sauerstoffverbrauch sein Maximum. Das gespeicherte ATP dürfte infolgedessen zu dieser Zeit als Energiespender an Bedeutung verlieren. Dementsprechend erfolgt das Absinken der ATP-Kurve jetzt langsamer, weist jedoch auf weiterhin ablaufende Synthesevorgänge hin. Nach Abschluss der Dotterbildung zum Zeitpunkt der Ovulation kann das ATP im Fettkörper allmählich wieder aufgebaut werden. Die vorübergehende starke Zunahme des ATP-Gehaltes während der Wasseraufnahme der Eier ist noch ungeklärt. Es besteht allerdings die Möglichkeit, dass es sich hier nur um eine scheinbare, durch eine Entwässerung des Fettkörpers bedingte Zunahme handelt. Da unsere Werte auf das Frischgewicht des Fettkörpers bezogen werden mussten, kann diese Möglichkeit vorläufig nicht ausgeschlossen werden.

Eine Wirkung eines Corpora allata-Hormones auf die Synthese von ATP dürfte nach unseren Ergebnissen möglich sein. Sollte das stoffwechselaktive Corpora allata-Hormon ähnlich wie Thyroxin eine Entkoppelung von Phosphorylierung und Oxydation bewirken (MARTIUS 1954), so wäre dadurch das Absinken des ATP-Gehaltes bei gleichzeitigem Ansteigen des Sauerstoffverbrauchs beim Einsetzen der Hormonproduktion zu Beginn der Eireifungsphase erklärbar.

### ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine Methode zur Bestimmung der Nukleotide im Fettkörper einer einzelnen *Leucophaea* beschrieben. Von den über 20 verschiedenen im UV absorbierenden Fraktionen wurden ATP, ADP und AMP identifiziert und deren Konzentration im Fettkörper im Verlauf des weiblichen Sexualzyklus von *Leucophaea* bestimmt. ADP und AMP sind während der ganzen Zeit in ziemlich konstanten, niedrigen Konzentrationen vorhanden. Der ATP-Gehalt des Fettkörpers sinkt während der Eireifungsphase von einer hohen Konzentration zur Zeit der Kokonablage zu einem Minimal-

wert kurz nach der Ovulation ab. Während der Wasseraufnahme in die Eier ist er stark erhöht und erreicht im letzten Teil des Zyklus ebenfalls hohe Werte. Eine mögliche Beziehung zwischen ATP-Konzentration im Fettkörper, Corpora allata-Aktivität und Sauerstoffverbrauch wird diskutiert.

## SUMMARY

A method for determining the nucleotides in the fat body of a single *Leucophaea maderae* is described. Using two-dimensional thin-layer chromatography on cellulose more than 20 UV-absorbing substances could be detected. ATP, ADP and AMP were identified and their concentrations measured during the female sexual cycle. The values for AMP and ADP are low and relatively constant. The ATP-content of the fat body is high at the time of deposition of the ootheca, decreases continuously during the maturation of the oocytes and reaches a minimum shortly after ovulation. The highest ATP-values are found during the uptake of water into the developing eggs. High levels of ATP are also encountered during the last stages of the sexual cycle (cf. Fig. 1).

A possible relationship between ATP-concentration in the fat body, activity of the corpora allata and oxygen-consumption is discussed.

## RÉSUMÉ

Une méthode pour la détermination des nucléotides dans le corps gras d'une seule *Leucophaea maderae* est décrite. En utilisant la chromatographie bidimensionnelle sur couche mince nous avons pu démontrer plus de 20 substances qui absorbent dans l'ultraviolet. Nous avons identifié l'ATP, l'ADP et l'AMP et mesuré leur concentration au cours du cycle sexuel des femelles. Les concentrations de l'ADP et de l'AMP sont faibles et relativement constantes. Le corps gras contient un maximum d'ATP au moment de la déposition de l'oothèque. La concentration de l'ATP décroît ensuite pendant la maturation des oocytes et atteint un minimum immédiatement après l'ovulation. Nous avons trouvé les plus hautes valeurs d'ATP pendant la phase d'hydratation des œufs. On remarque aussi une

haute teneur en ATP au cours des derniers stades du cycle sexuel (fig. 1).

La possibilité d'une relation entre la teneur en ATP du corps gras, l'activité des corpora allata et la consommation d'oxygène est discutée.

#### LITERATUR

- CRAMER, F. 1958. *Papierchromatographie*. 4. Auflage. Verlag Chemie, Weinheim/Bergstrasse.
- DAY, M. F. 1943. *The function of the corpus allatum in muscoid Diptera*. Biol. Bull., Woods Hole 84: 127-140.
- ENGELMANN, F. 1957a. *Die Steuerung der Ovarfunktion bei der ovoviviparen Schabe Leucophaea maderae (Fabr.)*. J. Ins. Physiol. 1: 257-278.
- 1957b. *Bau und Funktion des weiblichen Geschlechtsapparates bei der ovoviviparen Schabe Leucophaea maderae (Fabr.) (Orthoptera) und einige Beobachtungen über die Entwicklung*. Biol. Zbl. 76: 722-740.
- HIGHNAM, C. 1963. *Endocrine effects of crowding and isolation in insects*. Proc. XVI Intern. Congr. of Zoology, Washington 3: 6-7. Die Angabe über die Proteinsynthese zu Beginn der Eireifung wurde im Vortrag gemacht, ist jedoch nicht publiziert.
- HOHORST, H. J., KREUTZ, F. H. und BÜCHER, Th. 1959. *Über Metabolitgehalte und Metabolit-Konzentrationen in der Leber der Ratte*. Biochem. Z. 332: 18-46.
- LINDER, A. 1951. *Statistische Methoden*. Birkhäuser, Basel.
- LÜSCHER, M. und WALKER, I. 1963. *Zur Frage der Wirkungsweise der Königinnenpheromone bei der Honigbiene*. Rev. suisse Zool. 70: 304-311.
- MARTIUS, C. 1954. *Die Wirkungsweise des Schilddrüsenhormones*. In: 5. Coll. der Gesellschaft für physiol. Chemie in Mosbach/Baden, Springer 1955.
- PFEIFFER, I. W. 1945. *Effect of the corpora allata on the metabolism of female adult grasshoppers*. J. exp. Zool. 99: 183-233.
- RANDERATH, K. 1961a. *Dünnschicht-Chromatographie an Ionenaustauscher-Schichten. Trennung von Nukleinsäure-Derivaten*. Angew. Chem. 73: 674-676.
- 1961b. *A comparison between thin-layer chromatography of nucleic acid derivatives*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 6: 452-457.
- und STRUCK, H. 1961. *Dünnschichtchromatographische Trennung von Nukleinsäure-Derivaten an Cellulose-Schichten*. J. Chromatogr. 6: 365-367.

- SÄGESSER, H. 1960. *Über die Wirkung der Corpora allata auf den Sauerstoffverbrauch bei der Schabe Leucophaea maderae (F.)*. J. Ins. Physiol. 5: 264-285.
- SCHMITZ, H. 1960. *Vorkommen und Bedeutung von freien Nukleotiden in Zellen und Geweben*. In: 11. Coll. der Gesellschaft für physiol. Chemie in Mosbach/Baden, Springer 1961.
- THOMSEN, E. 1942. *An experimental and anatomical study of the corpus allatum in the blow-fly Calliphora erythrocephala Meig.* Vidensk. Medd. dansk. naturh. Foren Kbh. 106: 320-405.
- 1949. *Influence of the corpus allatum on oxygen consumption of adult Calliphora erythrocephala Meig.* J. exp. Biol. 26: 137-172.
- THRELFALL, C. J. 1957. *An analytical procedure for the acid-soluble phosphorus compounds in rat skeletal muscle*. Biochem. J. 65: 694-699.
- VOGT, M. 1947. *Fettkörper und Oenocyten der Drosophila nach Exstirpation der adulten Ringdrüse*. Z. Zellforsch. 34: 160-164.
-

# Oxidative Phosphorylation in Liver of Poikilothermic Animal

(*Rana pipiens*)<sup>1</sup>

by

**Wiktor W. NOWINSKI and William C. MAHAFFEY**

from the Cell Biology Unit, Department of Surgery,  
University of Texas Medical School, Galveston, Texas

In homoiothermic animals, the efficiency of the electron transport system in forming high energy phosphate bond of adenosine triphosphate (ATP) from the energy stored in the glucose molecule, is about 40 per cent as calculated from the data of HUNTER (1951). This figure as compared with those for man-made machines indicates, according to KREBS and KORNBERG (1957) a very high degree of economy. On the other hand, presence of oxidative phosphorylation was also found in a number of plants and invertebrates, including the muscle of *Ascaris lumbricoides* (CHIN and BUEDING 1954), which is of particular interest, because this parasite is presumably devoid of cytochromes. In homoiothermic animals the rest of the energy (60 per cent) dissipates in form of heat; this must be connected with the maintenance of constant body temperature. Therefore it seemed to us of interest to investigate oxidative phosphorylation in a poikilothermic animal, to establish whether there exist particular adaptations which are different than those of homoiotherms. The existence of such a possibility is supported by the fact that mitochondria from different sources

---

<sup>1</sup> This investigation was supported in whole by Public Health Service Research Grant CA-02296-13 from the National Cancer Institute.

may have not only different structures (PALADE 1952; DEROBERTIS et al 1962), but also the rate of enzymatic activity can be different, as shown by GREEN and HATEFI (1961) for oxidations, or by TOLANI and TALWAR (1963) for the activity of cytochrome oxidase in various parts of the brain.

As experimental animal we chose *Rana pipiens*, caught from January-March in the southwestern United States. We hoped that in winter frogs the differences, if they exist, would be more pronounced, because of the decreased rate of metabolism.

## METHODS

The frogs were decapitated and thoroughly bled, the livers immediately removed, washed and kept in ice-cold physiological solution. Then they were quickly weighed in ice-cold pans and homogenized in chilled glass homogenizer, in ice, with a 0.25 M sucrose solution to make a 10 per cent homogenate. The latter was first centrifuged 10 minutes at  $700 \times g$  in order to remove intact cells, cell debris and nuclei: the supernatant was then centrifuged 10 minutes at  $7000 \times g$  in a Spinco Model L preparative ultracentrifuge. The pellet of mitochondria was resuspended in sucrose, centrifuged 10 minutes at  $20000 \times g$  and finally diluted in such way that 0.5 ml mitochondrial suspension corresponded to approximately 500-1000 mg of original wet weight.

The measurement of oxidative phosphorylation, as ratios of Phosphorus to Oxygen (P: O), was carried out according to HUNTER (1955). Oxygen uptake was measured with the Warburg technique at 30°. The digest in each cup consisted of phosphate buffer at pH 7.4, 30  $\mu$ moles of substrate, the co-factors (NAD, NADP, Cytochrome c, ATP and  $Mg^{++}$ ), NaF in concentration of 0.01M (to decrease the activities of adenosine triphosphatase and phosphatase). A trapping system of hexokinase and glucose was present. To this digest, 0.5 ml of mitochondrial suspension was added. The experiments were stopped after 20-25 minutes, when the amount of oxygen used corresponded to 5-10  $\mu$ atoms. After addition of trichloroacetic acid to precipitate the proteins, the contents of the cups were centrifuged and the inorganic phosphate measured by the method of LOWRY and LOPEZ (1946).

## RESULTS AND DISCUSSION

The results of our experiments are summarized in Table I from which it follows that the P: O ratio for pyruvate is  $2.4 \pm 0.23$ , of isocitrate  $2.5 \pm 0.10$ ,  $\alpha$ -ketoglutarate alone  $2.3 \pm 0.12$ ,  $\alpha$ -ketoglutarate + malonate  $2.6 \pm 0.07$ , for succinate  $1.7 \pm 0.06$  and for malate  $2.3 \pm 0.26$ . These figures correspond in the intact cell to 3 molecules of ATP formed for each atom of oxygen with the substrate used and 2 molecules for succinate. These data are equal to those obtained with mammalian mitochondria, except for the step:  $\alpha$ -ketoglutarate-succinate, which in rat liver is 4.0 (COPENHAVER and LARDY 1952; KREBS et al. 1953), and in our case yielded P: O 3.0 even in the presence of malonate (added in half the molar amount of  $\alpha$ -ketoglutarate). Although SLATER and HOLTON (1954) found an identical P: O ratio for heart muscle, we are hardly inclined to accept 3.0 as the correct figure in our experiments.

TABLE 1.

*P:O ratios of Frog Liver Mitochondria  
with various substrates of the Krebs Cycle.*

In parentheses number of experiments.

Substrate	P: O observed	P: O in the cell
Pyruvate . . . . .	$2.4 \pm 0.23$ * (8)	3.0
Isocitrate . . . . .	$2.5 \pm 0.10$ (6)	3.0
$\alpha$ -ketoglutarate . . . . .	$2.3 \pm 0.12$ (16)	3.0
$\alpha$ -ketoglutarate + malonate .	$2.6 \pm 0.07$ (32)	4.0 **
Succinate . . . . .	$1.7 \pm 0.06$ (5)	2.0
Malate . . . . .	$2.3 \pm 0.26$ (6)	3.0

\* Standard error of the mean.

\*\* For justification see text.

Controls with rat liver mitochondria under identical conditions yielded P: O ratio of 4.0, which seems to us to be the correct one,

because the possibility exists that, in our case, the preparative procedure for isolation of mitochondria, such as the concentration of sucrose, may have partly inactivated this step. In view of the fact that all the other substrates gave the same figures as those found for rat liver mitochondria, we are led to assume that this step also, with great likelihood, does not differ from the one in homoiotherms. Thus from our results we conclude that oxidative phosphorylation of the frog liver is qualitatively identical with that of mammalian liver and that no special adaptations exist as far as the efficiency of this system is concerned.

A comparison with hibernating animals may be of interest here: ALLEE, EMERSON et al. (1949) expressed the opinion that "hibernating mammals become essentially poikilotherm during hibernation." Studies on such animals did not show any qualitative changes in enzyme systems, although there is a decrease in enzymatic activity. This is evidenced by the fact that the utilization of glucose decreases in hibernating animals, as indicated by its level in the blood: according to ZAJĄCZEK (1961) there is a drop of 50 per cent (see his paper for an excellent review of this problem). On the other hand, the nature of basal metabolism seems to be very characteristic: DONTCHEFT and KAYSER (1935) measured the RQ of hibernating animals (grey squirrel, marmot and hedgehog) and found it to be rather constant: 0.7 in all three cases. Similarly, BARTHÉLEMY and BONNET (1924) showed that tadpoles maintained at temperatures between 8° and 21°, a treatment which shortens the disappearance of gills from 30 to 8 days, show no changes in basal metabolism, the RQ being 0.75. BĚLEH-RÁDEK in his book on temperature and living matter (1935) concludes that "it seems that temperature plays no part in the coefficient of utilization of energy in living system, nor in the utilization of nutritive substances." With these words, he stresses that there are no qualitative differences in the metabolism (as expressed by its RQ).

The experiments by FLEISCHMANN (1937) in which he showed that the oxygen uptake in tissues of hibernating animals does not change, as compared to non-hibernating ones, seem to support our point of view that there are no qualitative differences in the metabolism of poikilothermic and homoiothermic animals. There is, however, the great probability that—since enzymatic processes



obey the Van't Hoff law—in cooler surroundings the rate of oxidative phosphorylation, i.e., the rate at which pyruvate molecules enter the Krebs cycle, may be lower.

### ACKNOWLEDGMENT

We wish to express our thanks to Mr. Harry A. Roberts, Jr. for his technical assistance.

### SUMMARY

Oxidative phosphorylation by mitochondria of livers from winter frogs (*Rana pipiens*) was measured in order to determine whether there exist in poikilothermic animals particular adaptations in the efficiency of the electron transport system as compared with homoiotherms.

P:O ratios obtained with pyruvate, succinate, ketoglutarate, malate and isocitrate were essentially the same as those found using rat liver mitochondria.

It is concluded that there are no qualitative differences between poikilothermic and homoiothermic animals with respect to efficiency of energy metabolism.

### ZUSAMMENFASSUNG

Zur Abklärung der Frage, ob bei poikilothermen Tieren im Vergleich zu homoiothermen besondere Anpassungen in Bezug auf die Wirksamkeit des Elektronentransportsystems vorkommen, wurde die oxydative Phosphorylierung von isolierten Lebermitochondrien von Winterfröschen (*Rana pipiens*) bestimmt.

Die für Pyruvat, Succinat, Ketoglutarat, Malat und Isocitrat erhaltenen P:O-quotienten entsprachen im wesentlichen denjenigen von Mitochondrien aus Rattenleber.

Daraus wird geschlossen, dass zwischen poikilothermen und homoiothermen Tieren hinsichtlich der Wirksamkeit des Energiestoffwechsels kein Unterschied besteht.

## RÉSUMÉ

La phosphorylation de mitochondries isolées du foie de *Rana pipiens* a été étudiée, pour déterminer si les animaux poikilothermes diffèrent des homéothermes par l'efficacité du système de transfert d'électrons.

Les quotients P: O obtenus pour le pyruvate, le succinate, le kétoglutarate, le malate et l'isocitrate correspondent à ceux des mitochondries du foie de rats.

On en conclut qu'il n'y a point de différence entre l'efficacité du métabolisme énergétique des animaux poikilothermes et celui des homéothermes.

## REFERENCES

- ALLEE, W. C., EMERSON, A. E., PARK, O., PARK, T. and SCHMIDT, K. P. 1949. *Principles of Animal Ecology*. W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- BARTHÉLEMY and BONNET. 1924. *Influence de la température sur l'utilisation de l'énergie au cours du développement de l'œuf de grenouille rousse (Rana fusca)*. C.R. Acad. Sci. 178: 2005-2006.
- BĚLEHRÁDEK, J. 1935. *Temperature and Matter*. Protoplasma-Monographien, Vol. 8, Gebr. Borntraeger, Berlin.
- CHIN, C.-H. and BUEDING, E. 1954. *Occurrence of Oxidative Phosphorylations in the Muscle of Ascaris lumbricoides*. Biochim. et Biophys. Acta 13: 331-337.
- COPENHAVER, J. H. and LARDY, H. A. 1952. *Oxidative Phosphorylations: Pathways and Yield in Mitochondrial Preparations*. J. Biol. Chem. 195: 225-238.
- DEROBERTIS, E., PELLEGRINO DE IRALDI, A., RODRIGUEZ DE LORES ARMAIZ G. and SALGANICOFF, L. 1962. *Cholinergic and Non-Cholinergic Nerve Endings in Rat Brain. I*. J. Neurochem. 9: 23-35.
- DONTCHEFF, L. and KAYSER, Ch. 1935. *La Dépense d'énergie chez la Marmotte en état d'hibernation*. C.R. Soc. Biol. 119: 565-568.
- FLEISCHMANN, W. 1937. *Winterschlaf und Hormone* (in Vergl. Physiol. der Inneren Sekretion). Quoted after Zajaczek (1961).
- GREEN, D. E. and HATEFI, Y. 1961. *The Mitochondrion and Biochemical Machines*. Science 133: 13-19.

- HUNTER, F. E., Jr. 1951. *Oxidative Phosphorylation During Electron Transport* (in "Phosphorus Metabolism" ed. McElroy and Glass, Johns Hopkins Press, Baltimore).
  - 1955. *Coupling of Phosphorylation with Oxidation* (in "Methods in Enzymology" ed. by S. P. Colowick and N. O. Kaplan, Vol. II, Academic Press, New York).
  - KREBS, H. A., RUFFO, A., JOHNSON, M., EGGLESTON, L. V. and HEMS, R. 1953. *Oxidative Phosphorylation*. *Biochem. J.* 54: 107-116.
  - and KORNBERG, H. L. 1957. *Energy Transformation in Living Matter*. Springer Verlag, Berlin.
  - LOWRY, O. H. and LOPEZ, J. A. 1946. *The Determination of Inorganic Phosphate in the Presence of Labile Phosphate Esters*. *J. Biol. Chem.* 162: 421-428.
  - PALADE, G. E. 1952. *The Fine Structure of Mitochondria*. *Anat. Rec.* 114: 427-452.
  - SLATER, E. C. and HOLTON, F. A. 1954. *Oxidative Phosphorylation Coupled with the Oxidation of  $\alpha$ -Ketoglutarate by Heart-muscle Sarcosomes*. *Biochem. J.* 56: 28-40.
  - ZAJĄCZEK, S. 1961. *Animal Hibernation*. in "Artificial Hibernation and Hypothermia" Published for National Science Foundation and the Department of Health, Education and Welfare. Panstwowe Wydawn. Naukowe, Warszawa 1961.
  - TOLANI, A. J. and TALWAR, G. P. 1963. *Differential Metabolism of Various Brain Regions. Biochemical Heterogeneity of Mitochondria*. *Biochem. J.* 88: 357-362.
-



# Data concerning the relative distribution of two varieties of *Discoglossus pictus* in Sicily (*Amphibia*)

by

**G. REVERBERI**

Istituto de Zoologia, Palermo

*This paper is dedicated to Prof. F. Baltzer  
as an acknowledgement of his great contribu-  
tion to zoological research.*

## INTRODUCTION

*Discoglossus pictus* is an anuran which is very common in Sicily; its eggs can be obtained at practically any time of the year, so it is an excellent material for embryological investigation.

The genus is distributed in a rather limited area: the south eastern region of France (eastern Pyrénées), Spain, north Africa (Maroque, Algerie, Tunisia), Sicily, Sardinia and Corsica with some closely related islands.

Until a few years ago only one species, *pictus* (with two sub-species) was included in this genus: however recently MENDELSSOHN and STEINITZ (1943), added a new species, *nigriventris*, from Palestine; and more recently KNOEPFFLER (1961) maintained that the subspecies *sardus* from Sardinia and Corsica is to be elevated to a species. According to KNOEPFFLER, then, the gen. *Discoglossus* would include 3 species: *pictus* distributed on a rather large area;

*sardus* limited to Sardinia, Corsica and some of their contiguous islands; and finally *nigriventris*, limited to a very narrow locality in Palestine. The morphological and ecological characteristics of these 3 species have been accurately described by various authors.

The species *pictus* was described by OTTH in 1837, on a few animals captured in Sicily and kept in the Museum of Vienna. Authors agree that the coloration of the skin is highly variable; in this respect, CAMERANO (1883) distinguished two varieties: *D. pictus* var. *vittata*, and *D. pictus* var. *ocellata*. SCHREIBER (1912) added another variety characterized by red-brown, uniform coloration.

Data concerning the relative frequency of these varieties in a particular area, or in different countries, are very scarce: according to LANTZ (1947) "In *D. pictus*, striped and spotted specimens occur side by side throughout the range, without, as far as is known, any marked preponderance of the one form on the other". In Sardinia and Corsica the var. *vittata* is absent (LANTZ, 1947). KNOEPFFLER (1961) also notes that the specimens of those regions are always spotted.

Until recently it was supposed that the diversity of coloration was due to environment. However LANTZ (1947), GALLIEN (1948), ALONSO-BEDATE (1960) and KNOEPFFLER (1961) showed that the type of coloration is genetically determined. This conclusion is also supported by the results obtained by ALONSO-BEDATE (1959) and LA SPINA (1963), transplanting fragments of the neural crests (which are responsible for the colored pattern) from *vittata* to *ocellata*, and vice versa.

## 2. MATERIAL

The material under examination consisted of adults and recently metamorphosed individuals from different localities in Sicily. The sex of adult specimens was determined from observations of the digital pads which are characteristic of the males in sexual maturity. The sex of the young specimens was determined by dissection.

Preliminary results were published by PALCICH (1959): our new data have been added to these.

### 3. THE CHARACTER "YELLOW STRIPES" OF THE VAR. "VITTATA"

The individuals of this variety (*vittata*) are characterized by the fact that they have on the upper surface of the body 3 longitudinal yellow stripes: one of which runs medially, the two others laterally; the median extends from the tip of the snout to the cloacal aperture. The stripes are broad and contrast against the blackish coloration of the ground: in some specimens the stripes are very bright.

From the beginning of our investigation we were struck by the fact that the individuals of the var. *vittata* are very difficult to find. With the hope of finding an area populated almost entirely by individuals with yellow-stripes, we made an accurate search in different areas, but everywhere we found that yellow striped individuals occur together with those with black spots. It was also found that the black spotted specimens are more frequent.

In table I the relative frequencies of individuals of the two varieties, captured in the district of Palermo in several years, are reported: as shown the individuals of the var. *vittata* constitute only 6,9% of the population.

TAB. I.

*3250 adults of Discoglossus pictus collected in the district of Palermo distributed according to their coloured pattern.*

Var.	Number ind.	%
<i>ocellata</i>	3029	93,1
<i>vittata</i>	226	6,9

A similar investigation carried out in different areas in Sicily gave the results reported in table II: they are not very different.

In table III 2703 animals were distributed according to their coloration and sex. The data show that neither coloration is limited to the sex: males and females are present in each variety. The table shows also that in both varieties the males are more

frequent than the females; this point will be investigated more fully in the future.

TAB. II.

*389 adults of Discoglossus pictus collected in different districts of Sicily distributed according to their coloured pattern.*

District	Total	Var. ocellata		Var. vittata	
		n.	%	n.	%
Messina . . . . .	85	79	92,9	6	6,1
Catania . . . . .	56	54	96,4	2	3,6
Agrigento . . . . .	84	81	96,4	3	3,6
Siracusa . . . . .	22	21	95,4	1	4,6
Caltanissetta . . . . .	34	32	94,1	2	5,9
Trapani and Mazara .	77	75	97,4	2	2,6
Regalbuto . . . . .	31	27	87,1	4	12,9
Totals . . . . .		369	94,8	20	5,2

TAB. III.

*2703 adults of Discoglossus pictus distributed for sex and coloured pattern.*

Variety	Number ind.	♀♀	♂♂	P for sex-ratio 50 %
<i>ocellata</i>	2489	1168	1321	0.01
<i>vittata</i>	214	88	126	0.01
Totals	2703	1256	1447	

For the equal distribution of the sexes in the two varieties:

$$\begin{aligned} X^2 &= 2.65 \\ n &= 1 \\ P &= 0.2 \end{aligned}$$

#### 4. THE CHARACTER "BLACK SPOTS" OF THE VAR. OCELLATA.

The "black spotted" specimens are characterized by numerous black spots on the back: the shapes and the sizes of the spots are variable; the shape is usually oval; the spots are generally separate



except in the interscapular region where they join to form a sort of X; the shape of this X varies considerably, depending upon the number and the shape of the constituent spots: generally 8 to 10 spots are involved.

Behind the X, one can notice a distinct yellow spot: its shape is triangular or trapezoidal; in some individuals, however, it is missing.

The other spots are arranged in 4 longitudinal stripes: the pattern, however, varies. In the median posterior region of the back one can also notice, in some individuals, an inconspicuous yellow stripe. In some individuals the black spots are large and with a yellow border; males and females do not show any difference for this pattern.

## 5. RESULTS OF THE CROSSES

Crosses are very easy to do in the laboratory. The selected specimens are put together in an aquarium, their eggs isolated and the tadpoles raised until metamorphosis. The coloured pattern appears just before metamorphosis.

The following crosses were performed:

a) Cross: "black spotted" X "black spotted"

The results from 16 crosses are reported in table IV. As shown clearly in the table, from such crosses one obtains only "black spotted" individuals.

TAB. IV.

*Results from 16 crosses between individuals*  
*"black spotted" × "black spotted"*

Number of individuals	"black spotted"	"yellow striped"
1719	1719	—

b) Cross: "yellow striped" X "yellow striped"

The results of 16 crosses are reported in tab. V. From these crosses were obtained "yellow striped" and "black spotted"

individuals; only in exp. 1 (and possibly in one of the exp. 8-10) 100% of "yellow striped" individuals were obtained. If the data of exp. 1 and 8-10 are not calculated it results that the "yellow striped" specimens are 75% and the "black spotted" 25%.

TAB. V.

*Results from 16 crosses between individuals*  
*"yellow striped" × "yellow striped"*

Experiments	Total of indiv.	"yellow striped"	"black spotted"
1	14	14	—
2	27	20	7
3	23	16	7
4	60	48	12
5	22	14	8
6	40	32	8
7	106	81	25
8-10	907	734	173
11	70	25	45
12	51	35	16
13	64	57	7
14	61	41	20
15	88	69	19
16	138	124	14

Total = 1671 "yellow striped" = 1310 (78.6%) (ratio 3:1)  $\chi^2 = 10.25$   
 "black spotted" = 361 (21.4%)  $P = 0.001$

In exp. 8-10 three couples of "yellow striped" specimens were put together; probably one of these couples gave only "yellow striped" individuals. If exp. 1 and 8-10 are not considered the results of the crosses are: 75% "yellow striped" and 25% for "black spotted", as in a Mendelian cross between two  $F_1$  heterozygotes.

*c) Cross: "yellow striped" × "black spotted"*

In the experiments of this type the character "yellow striped" was sometimes brought by the male, sometimes by the female; the result, was, however, always the same, as reported in tab. VI. One can see that 50% of the individuals result "yellow striped" and 50% "black spotted".

From the above one can conclude that the coloured pattern is dependent on an autosomal gene; and that the gene for "yellow striped" is dominant to the gene for "black spotted". Indicating the alleles as V (= vittata) and v, the constitution of the "yellow striped" individuals is VV or Vv, and that of the "black spotted" individuals is vv.

TAB. VI.

*Results from 10 crosses between individuals*  
*"yellow striped" × "black spotted"*

Cross	Total	Yellow striped	Black spotted
a) yellow ♂ × ♀ spotted	86	42	44
" ♂ × ♀ "	39	23	16
" ♂ × ♀ "	12	7	5
" ♂ × ♀ "	124	67	57
" ♂ × ♀ "	148	68	80
" ♂ × ♀ "	201	102	99
b) yellow ♀ × ♂ spotted	6	4	2
" ♀ × ♂ "	147	80	67
" ♀ × ♂ "	184	107	77
(not determined)	247	120	127
	1194	620	574

$$\chi^2 \text{ For ratio } 50\% = \chi^2 = 1.772$$

$$\frac{n}{P} = \frac{1}{10.2}$$

## 6. THE COLOURED PATTERN IN SPECIMENS SHORTLY AFTER METAMORPHOSIS

The results of the crosses presented above show that the coloured pattern of the individuals of the two varieties of *D. pictus*, is determined by an autosomic gene; and that the allele for "yellow stripes" is *dominant* on that for "black spotted".

Does the last conclusion agree with the fact that "yellow striped" individuals are only 6.9% of the population?

As the noticed frequency refers to adult specimens we proposed to check its validity in recently (5-6 weeks) metamorphosed specimens: so we collected 1647 small *Discoglossus* in the field and we distributed them according to their colour. The results, presented in table VII, show that the percent of "yellow striped" individuals is about the same as that noticed for the adults.

To imitate the conditions met in nature the following experiment was devised in the laboratory.

TAB. VII.

*Very young (metamorphosed since some weeks) Discoglossus pictus distributed according to their coloured pattern.*

Total	" Black spotted "		" Yellow striped "	
	Total	%	Total	%
1647	1559	94,6	88	5,4

TAB. VIII.

	Black spotted	Yellow striped
Beginning of experiment	883	569
End of experiment	28 (25,02)	13 (15,93)

In a small terrarium, containing sufficient nourishment (*Tubifex*) and also 4-5 " medium-size " predatory specimens of *Discoglossus*, (which usually eat the small ones) 883 " black spotted " and 569 " yellow striped " specimens were introduced: the specimens were placed in the terrarium as soon as they metamorphosed. After about 3 months the remaining individuals were counted; one obtained the following result: 28 " black spotted " and 13 " yellow striped ". The result is reported in Tab. VIII.

## 7. DISCUSSION

1. Our investigation on the relative frequency of the individuals of the var. *vittata* with respect to those of the var. *ocellata* leads to the affirmation that the coloured pattern, characteristic for these two varieties, is controlled by an autosomic couple of genes and that the gene for " yellow stripes " is dominant on that for " black spots ".

Our results agree with those of LANTZ (1947), GALLIEN (1948), BRUCE and PARKES (1947), ALONSO-BEDATE (1960) but not with those of KNOEPFFLER (1962). This last author obtained 41 metamorphosed specimens from the cross *D. pictus* ♂ × *D. sardus* ♀: they all presented the "black spotted" pattern. "Tous les animaux—according to the author—obtenus par croisement sont rigoureusement identiques entre eux de forme et de dessin. De plus, aucun des hybrides n'arbore la livrée rayée de la forme *pictus*... Que conclure de ce fait? Les rayures dorsales de *D. pictus* sont un caractère récessif qui disparaît au moment du croisement." The author explains the results of LANTZ and GALLIEN, admitting that the specimens used in their crosses, in fact, did not belong to *sardus* but to *pictus* of var. *ocellata*: "Comment LANTZ et GALLIEN ont-ils obtenus des hybrides rayés? Il semble que les *D. pictus sardus* employés par ces auteurs aient été en réalité des *D. pictus* de la forme ocellée". From this quotation it seems that in Sardinia there would be specimens of both species, *pictus* (var. *ocellata*) and *sardus*.

2. The situation of *Discoglossus* is not new, in the anurans.

In *Rana pipiens* two varieties have been also described: the "wild" type, with the characteristic spotting pattern (due to gene, which, however, operates with an integrating system of modifiers) and the "burnsi" type due to a mutation suppressing the formation of the black spots on the back (VOLPE 1961; MOORE 1942).

In *Bombina* also two varieties have been described, one with a yellow abdomen (found in Italy, France etc.) and another with a red abdomen (Denmark, Russia etc.). The colour would also be in this case dependent on a pair of genes, and the gene responsible for "yellow" would dominate over that responsible for "red" (cfr. CUÉNOT 1936, p. 155).

3. Results deriving from transplanting fragments of the neural crests from specimens of one variety on specimens of the other variety (ALONSO-BEDATE 1959; LA SPINA 1963) show how independent are the genes responsible for the coloured pattern. The realization of the original coloured pattern is not disturbed by the genotype of the host with which the transplant enters in relation: chromatophores VV or Vv always give rise to the typical "yellow striped" pattern when transplanted on a host whose genetical

constitution is vv. Vice versa, chromatophores vv always give rise to the typical "black spotted" pattern, when transplanted on specimens whose genetic constitution is VV or Vv. Offering to chromatophores vv a VV or Vv mesoderm (or entomesoderm) they still give rise to the "black spotted" pattern; a "yellow striped" pattern is also obtained when VV or Vv chromatophores are compelled to migrate on vv mesoderm (or mesentoderm).

4. As shown, the gene for "yellow striped" is *dominant* to the gene responsible for the "black spotted" pattern; although the gene is dominant, the relative frequency of the "yellow striped" individuals is very low in nature. We are not able to give an explanation of this fact; probably the explanation is much more complex than one can suppose.

#### ACKNOWLEDGEMENT

The author wishes to thank Prof. MONTALENTI and Dr. CARFAGNA for the statistical elaboration of the data and for their kind advice.

#### ZUSAMMENFASSUNG

In Sizilien tritt *Discoglossus pictus* in zwei Varietäten, nämlich var. *vittata* und var. *ocellata* auf. Ihre Verbreitung scheint sich auf ganz Sizilien zu erstrecken; var. *ocellata* ist bedeutend häufiger (94%) als var. *vittata* (ca. 6%). Aus Kreuzungsversuchen zwischen Individuen der gleichen bzw. der beiden Varietäten geht hervor, dass das Zeichnungsmuster durch ein autosomales Genpaar bedingt ist. Das Gen für das Merkmal "gelb gestreift" ist dominant über das Gen für das Merkmal "schwarz gefleckt". Für "gelb gestreifte" Individuen gilt demnach der Genotypus VV bzw Vv, für "schwarz gestreifte" hingegen vv. Die Ursache für die geringe Häufigkeit der "gelb gestreiften" Individuen ist nicht bekannt.

#### RÉSUMÉ

En Sicile on rencontre deux variétés de *Discoglossus pictus*, à savoir les variétés *vittata* et *ocellata*. Les deux variétés sont répandues sur toute la Sicile, la variété *ocellata* étant toutefois

plus fréquente (94%) que *vittata* (env. 6%). Des croisements entre individus de la même ou des deux variétés démontrent que la coloration est déterminée par une paire de gènes autosomaux. Le facteur "raies jaunes" est dominant sur le gène "taches noires". Les individus à raies jaunes ont donc le génotype VV ou Vv tandis que ceux à taches noires sont du type vv. La raison pour laquelle les individus à taches jaunes sont rares n'est pas connue.

### SUMMARY

In Sicily there are two varieties of *Discoglossus pictus*: the var. *vittata* and the var. *ocellata*. They seem to be represented all over in Sicily. Specimens of the var. *ocellata* are more frequent (about 94%) than those of *vittata* (about 6%).

From crosses between individuals of the same or of different variety it results that the colour pattern depends on a pair of autosomic genes; and that the gene responsible for the "yellow striped" pattern is *dominant* to the gene responsible for the "black spotted" character. The "yellow striped" specimens can be indicated as VV or Vv; the "black spotted" specimens vv. The possible cause responsible for such a low proportion of "yellow striped" specimens in the population is not known.

### REFERENCES

- ALONSO-BEDATE, M. 1960. *Análisis experimental de la pigmentación dorsal de Discoglossus pictus*. Bol. R. Soc. Hist. Nat. 58: 5-71.
- BRUCE, H. M. and PARKES, A. S. 1947. *Observations on Discoglossus pictus* Oth. Proc. Roy. Soc. London 134: 37-52.
- CAMERANO, L. 1883. *Monografia degli Anfibi Anuri italiani*. Mem. Acc. Torino 35: 187-284.
- CUÉNOT, L. 1936. *L'espèce*. Doin et Cie, Paris.
- GALLIEN, L. 1948. *Sur les caractères et l'intérêt biologique d'un Batracien anouère de Tunisie: Discoglossus pictus* Oth. Bull. Soc. Sci. Nat. Tunis 1: 80-82.
- KNOEPFFLER, L. P. 1961. *Contribution à l'étude du genre Discoglossus (Amphibiens, Anoures)*. Thèse, Fac. Sci. Univ. Paris 1-96.

- LANTZ, L. A. 1947. *Note to the paper of Bruce and Parkes: Observations on Discoglossus pictus Oth.* Proc. Roy. Soc. London 134 B: 52-56.
- LA SPINA, R. 1963. *Analisi sperimentale del disegno pigmentato di Discoglossus pictus.* Acta Embryol. Morphol. Exper. 6: 11-20.
- MENDELSSOHN, H. and STEINITZ, H. 1943. *A new Frog from Palestine.* Copeua: 231-233.
- MOORE, J. A. 1942. *An embryological and genetical study of Rana burnsi Weed.* Genetics 27: 408-416.
- OTTH, A. 1837. *Beschreibung einer neuen europäischen Forschgattung, Discoglossus.* Neue Denkschr. Schweiz. Gesell. Gesamt. Naturw. 1: 1-8.
- PALCICH, L. 1957. *Sulle due razze di Discoglossus che vivono in Sicilia. Primi rilievi sulla distribuzione e frequenza.* Boll. Zool. 24: 690-702.
- SCHREIBER, E. 1912. *Herpetologia Europaea* (2). Verl. Vierweg und Braunschweig. Jena.
- VOLPE, E. P. 1961. *Variable expressivity of a mutant gene in leopard frog.* Science 134: 102-104.
-



# Die Evolution der Gliedmassen in entwicklungsphysiologischer Perspektive

von

**P. A. TSCHUMI**

Zoologisches Institut der Universität Bern

Mit 5 Textabbildungen.

*Herrn Prof. Dr. F. Baltzer zum  
80. Geburtstag in Dankbarkeit ge-  
widmet.*

## 1. EINLEITUNG

Die Evolutionslehre ist heute kaum mehr umstritten. Unter den möglichen kausalen Erklärungen stammesgeschichtlicher Wandlungen scheint sich der Neodarwinismus endgültig durchgesetzt zu haben. Er ist nicht nur theoretisch durchdacht worden, sondern er kann sich auf eine stets anwachsende Fülle von Belegen stützen. Stimmen, welche die neodarwinistische Theorie in Frage stellen, werden demnach immer seltener.

Der Neodarwinismus gründet sich auf die Genetik und namentlich die Populationsgenetik. Evolution ist das Ergebnis einer Veränderung der Genzusammensetzung einer Population. Der wichtigste hierfür verantwortliche Faktor ist die natürliche Auslese oder Selektion, und Voraussetzung für die Wirksamkeit der Selektion ist die genetische Variabilität (oder der genetische Polymorphismus) innerhalb der Population. Diese Variabilität geht zurück auf Mutation und Neukombination von Genen.

Evolution ist somit in erster Linie ein genetisches Problem.

Nun aber vermag die genetische Perspektive allein für verschiedene Aspekte der Evolution keine befriedigende Erklärung zu geben. Dies gilt zum Beispiel für die Umkonstruktion ganzer Baupläne, für die sog. Orthogenesen und Überspezialisierungen, zum Teil auch für das Rudimentärwerden von Organen sowie für sprunghafte Evolutionsschritte (siehe RENSCH 1947, 1954, SIMPSON 1953, HEBERER 1959). Die genetische Grundlage der Evolutionstheorie musste dadurch eine Erweiterung erfahren, dass auch die Ergebnisse anderer biologischer Disziplinen in den Problembereich der Evolution einbezogen wurden. Die Biometrie z. B. lieferte sehr wesentliche Einsichten in die Faktoren, welche stammesgeschichtlichen Proportionsänderungen zugrunde liegen. Selektiv bedingte Änderungen der Wachstumsrate oder Dimension einzelner Organe oder des ganzen Organismus kann infolge von Allometrie eine Vergrößerung oder Verkleinerung von Körperteilen mit sich bringen, die der Selektion nicht direkt ausgesetzt sind (siehe HUXLEY 1932, 1942, ROBB 1935, 1936, RENSCH 1947, 1954, 1959). Die Probleme der Orthogenesen und Überspezialisierungen erwiesen sich so als grundsätzlich mit den heute bekannten Tatsachen lösbar.

Von entscheidender Bedeutung für das Verständnis stammesgeschichtlicher Wandlungen sind ferner Embryologie und Entwicklungsphysiologie (siehe DE BEER 1951). Sie zeigen unter anderem, dass die Gestalt eines Organismus nicht das Ergebnis einer mosaikhafte Genwirkung ist sondern vielmehr aus komplexen entwicklungsphysiologischen Wechselwirkungen und Korrelationen hervorgeht. Aus dieser Einsicht heraus wird etwa das vorübergehende Auftreten embryonaler Organanlagen verständlich. Sie können als Glieder entwicklungsphysiologischer Abläufe unentbehrlich sein (LEHMANN 1938). Xenoplastische Transplantationen (BALTZER 1950, 1952) haben ferner gezeigt, dass das entwicklungsphysiologische Faktorensystem sich nur in wenigen Punkten zu ändern braucht, um bereits Gattungs- oder noch höhergradige Unterschiede zu bewirken. Wie BALTZER (1952, S. 297) sagt, darf ferner „bei evolutivem Geschehen eine grosse Plastizität und Kombinierbarkeit von Teilvorgängen angenommen werden“. „Dies vermindert bis zu einem gewissen Grad die Schwierigkeiten, denen wir bei der stammesgeschichtlichen Entstehung stark abweichender neuer Typen begegnen.“ Somit haben sich die Prinzipien und Eigen-

gesetzmäßigkeiten der Embryonalentwicklung für das Verständnis stammesgeschichtlicher Wandlungen als ebenso unentbehrlich erwiesen wie die schon besser und länger bekannten Gesetze der Vererbung, sowie die paläontologischen, vergleichend anatomischen und andern Tatsachen.

Einen Einbau entwicklungsphysiologischer Einsichten in die Theorie der Abstammung erlaubten die folgenden Versuche an Amphibiengliedmassen.

## 2. DIE EXPERIMENTELLE REDUKTION VON EXTREMITÄTEN

Hinterbeinknospen von *Xenopus*larven wurden auf dem Blastemstadium lokal mit verdünnten Lösungen antimittotischer und zell-letaler Substanzen, wie Colchicin (LEHMANN 1946, BRETSCHER 1947, 1949) oder „N-Mustard“ (TSCHUMI 1953, 1954) behandelt. Als Ergebnis der vorübergehenden Mitosehemmung und Zell-Letalität entwickelten sich Extremitäten, bei denen Strahlen miteinander verwachsen waren, denen eine, zwei oder mehr Zehen fehlten, oder die sogar bis auf proximalste Elemente reduziert waren (Abb. 1). Mit zunehmender Reduktion der Extremität fallen die Strahlen sukzessive, in einer bestimmten Reihenfolge, aus. Als erste wird ausnahmslos die I. Zehe rückgebildet. Bei 3-Zehern fehlt zusätzlich der V. oder II. Strahl. Bei noch stärkerer Reduktion fehlen auch die Strahlen III oder IV. Nach Rückbildung des ganzen Fusses fallen die Unterschenkelelemente und endlich der Oberschenkel aus.

Dieser sukzessive Ausfall von Extremitätenteilen geht nicht auf entsprechend vereinfachte Aufgliederung des Blastems zurück. In der Regel bilden sich bei behandelten Beinen zunächst mehr Zehenanlagen heraus, als später vollwertige Strahlen vorliegen werden, bei künftigen 4-Zehern z. B. also 5 Strahlenanlagen wie bei der Normalentwicklung. Die Rückbildungsprozesse setzen erst nachträglich ein (s. Abb. 2). Sie bestehen darin, dass die beiden zuletzt entstehenden Anlagen (I und II) miteinander verwachsen oder verschmelzen, oder dass ebenfalls spät entstehende Anlagen in ihrer Entwicklung stehen bleiben oder wieder abgebaut werden.

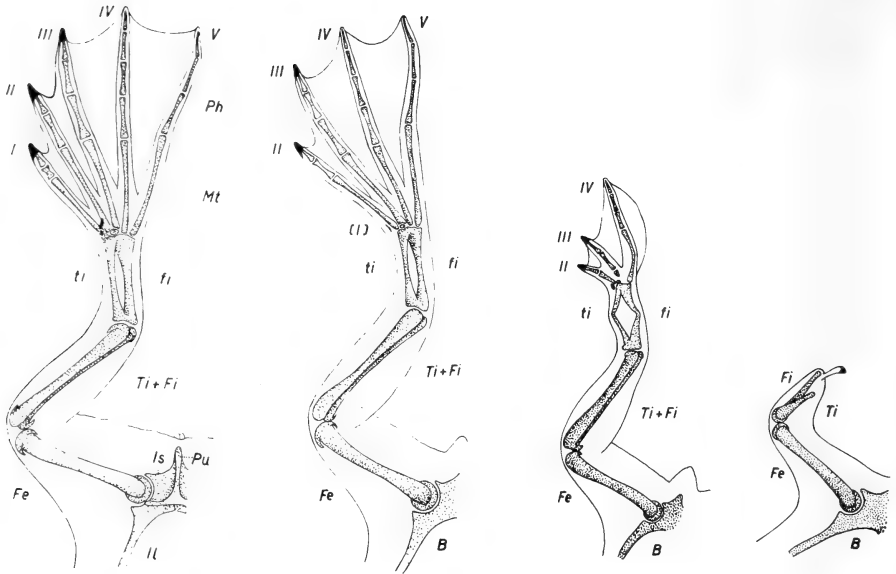


ABB. 1.

Verschieden stark reduzierte Hinterextremitäten von *Xenopus*, nach Behandlung der Knospen mit „Nitrogen Mustard“.

Von links nach rechts: Normale Hinterextremität; 4-Zeher; 3-Zeher; Bein-stummel ohne Fuss (Hautlappen mit Krallen). I—V = Zehen. Mt = Meta-tarsus. ti = tibiale = Talus. fi = fibulare = Calcaneus. Ti = Tibia. Fi = Fibula. Fe = Femur. Il = Ilium. Is = Ischium. Pu = Pubis. B = Becken.

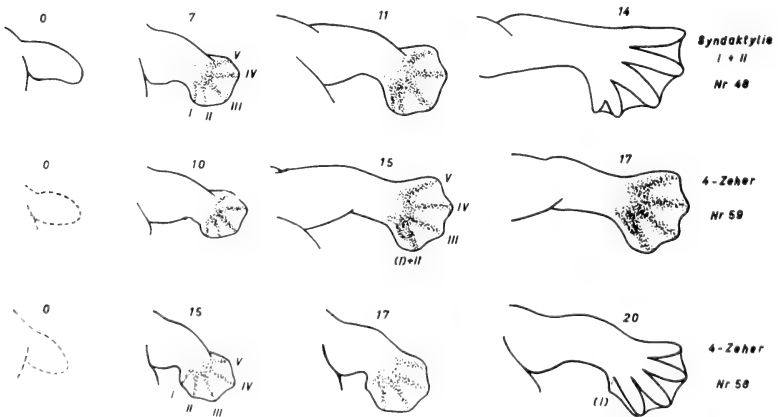


ABB. 2.

Reduzierte Extremitäten entwickeln sich aus behandelten Knospen, indem sich zuerst der ursprüngliche Bauplan herausbildet. Einzelne Strahlen werden erst nachträglich gehemmt oder rückgebildet. Zahlen oberhalb der Beine: Tage nach der Behandlung.

Da verschmelzende oder in Rückbildung begriffene Anlagen keine Degenerationserscheinungen (z. B. Pyknosen) zeigen sondern im Gegenteil Mitosen aufweisen, können die Rückbildungsprozesse keine direkte Folge der Behandlung sein. Die Ursachen dieser nachträglichen Modifikationen des primären Anlagenmusters wurden in Anlehnung an GUYÉNOT und SCHOTTÉ (1923), GUYÉNOT (1927), Mettetal (1939) in einer Verkleinerung des Extremitätenblastems gesucht. Die genannten Autoren hatten nämlich aus zu kleinen Regenerationsblastemen bei Urodelen wiederholt Gliedmassen mit reduzierter Zehenzahl erhalten. Tatsächlich ergaben planimetrische Messungen mit Zeichenapparat aufgenommener Beinzeichnungen, dass die Zehenpalette zur Zeit der Strahendifferenzierung im Verhältnis zum jeweiligen Entwicklungsgrad zu klein war, und zwar umso kleiner, je stärker der Fuss später reduziert wurde. Diese sowie weitere Messungen (siehe TSCHUMI 1954) haben die folgende Erklärung der Rückbildungsprozesse nahegelegt:

In der zu kleinen Fusspalette bilden sich die zuerst auftretenden Strahlen (III, IV, V) in nahezu normaler Grösse heraus. Sie sind also verhältnismässig zu gross. Die Bereiche der später entstehenden Anlagen (I und II) sind dagegen zu klein, und diese letzten Strahlen entstehen mit Verspätung und oft zu dicht beisammen. Somit haben die ersten Strahlen einen Entwicklungsvorsprung. Da sich ihr Bedarf an Aufbaustoffen und eventuell auch die Stärke von ihnen ausgehender Hemmwirkungen (vergl. ROSE 1952, TARDENT 1961) erhöht, liesse sich die oft beobachtete Verschmelzung, Hemmung oder Rückbildung von Strahlen als Folge einer Beeinträchtigung durch die in der Entwicklung vorseilenden Strahlen verstehen. Einen ähnlichen Entwicklungsvorsprung gewinnt, infolge der Behandlung, auch der Beinstamm gegenüber der Fusspalette. An der Rückbildung von Strahlen scheint auch dieses Missverhältnis mit Schuld zu sein. Die Natur der Hemmwirkungen muss durch weitere Versuche noch ermittelt werden.

Die Rückbildung von Strahlen wäre somit die Folge einer Konkurrenz der relativ zu gross entstehenden Anlagen um ein reduziertes Substrat. Bei dieser Konkurrenz müssen die zuerst auftretenden Elemente im Vorteil sein, und tatsächlich fallen in der Regel diejenigen Teile am ehesten aus, die sich in der Normal-

entwicklung zuletzt differenzieren. Die obenerwähnte Reduktionsfolge fände hier somit eine Erklärung.

### 3. DAS KONKURRENZPRINZIP UND SEINE BEDEUTUNG FÜR DIE EVOLUTION DER TETRAPODEN-EXTREMITÄTEN

Im Mittelpunkt der hier kurz zusammengefassten Ergebnisse steht das Prinzip der physiologischen Konkurrenz, auf welches schon diverse Autoren, wie STOCKARD (1921), WEISS (1939), hingewiesen haben, dessen entwicklungsphysiologische Bedeutung aber besonders durch SPIEGELMAN (1945), LEHMANN (1948, 1953) und ROSE (1952) umschrieben wurde. Nach diesem Prinzip stehen biologische Einheiten (Organe, Anlagen usw.) dann miteinander in Konkurrenz, wenn sie von einem gemeinsamen Substrat zehren und eventuell hemmend wirkende Stoffwechselprodukte in ein gemeinsames Milieu abgeben. Solche Konkurrenz kann eine gegenseitige oder, wie etwa bei Entwicklungsvorsprung, eine einseitige Hemmung bzw. Dominanz von beteiligten Einheiten zur Folge haben.

Auf die Möglichkeit, dass eine Konkurrenz innerhalb des Organismus auch bei stammesgeschichtlichen Wandlungen eine Rolle spielen könnte, hat RENSCH (1943, 1947, 1954) eingehend hingewiesen. RENSCH führt zahlreiche Proportionsänderungen, Rückbildungen, Rudimentierungen usw. auf „Materialkompensation“ zurück, so z. B. die bei starker Entwicklung einzelner Zähne häufige Rückbildung benachbarter Zähne bei Säugern oder, was in unserem Zusammenhang wichtig ist, die Reduktion seitlicher Strahlen bei starker Entwicklung mittlerer Strahlen bei Pferden usw.. RENSCH nimmt dabei an, dass die stärker wachsenden Organanlagen ihren Nachbarn Baumaterial entziehen. Durch die experimentellen Indizien, dass die Zehenanlagen miteinander in Konkurrenz stehen, und dass dadurch Strahlen rückgebildet oder rudimentär werden können, gewinnt RENSCH's Annahme stark an Wahrscheinlichkeit.

Wir wollen im Folgenden einige Um- und Rückbildungen, die die 5-strahlige Urform der Vierfüsserextremitäten im Laufe der Stammesgeschichte erfuhr, näher betrachten und untersuchen,

inwiefern sie sich mit unseren Vorstellungen über Konkurrenz interpretieren lassen.<sup>1</sup>

a) DIE RÜCKBILDUNG VON STRAHLEN BEI DER SPEZIALISIERUNG DER EXTREMITÄTEN

Bei der Spezialisierung und Anpassung der Gliedmassen an bestimmte Lebensweisen wurden besonders die distalen Elemente stark umkonstruiert. Bei Vertretern aller Tetrapodenklassen wurden bestimmte Strahlen verlängert und verstärkt, andere dagegen völlig reduziert oder rudimentär. Dabei ist die stärkere Entwicklung einzelner Strahlen regelmässig von einer Abschwächung, Rudimentierung oder Totalreduktion von Nachbarstrahlen begleitet.<sup>2</sup>

Für die Annahme, dass solche Strahlenrückbildungen Konkurrenzeffekte sein könnten, sprechen die folgenden Überlegungen. Bei der experimentellen Gliedmassenreduktion wirkt sich die Verkleinerung der Knospe wie eine Bevorteilung der zuerst auftretenden Elemente aus, indem diese einen Entwicklungsvorsprung über die letzten Anlagen erlangen. Wenn nun die phylogenetische Verlängerung oder Verstärkung von Strahlen darauf zurück geht, dass ihre Differenzierung etwas früher einsetzt, dass sich ihre Anlagen grösser herausbilden, dass ihre Wachstumsrate zunimmt, dann kann dies auf Grund unseres experimentellen Befundes ein Auskonkurrieren von Nachbarstrahlen zur Folge haben.

Für die erwähnten Rückbildungen können allerdings auch andere Erklärungen angeführt werden. Für die fossil gut belegte

<sup>1</sup> Nachdem sich auch bei Hühnchen durch Antimitotika (GABRIEL 1946, BRETSCHER 1950, 1951) und X-Strahlen (SCHUÉ 1951) Rückbildungen von Strahlen erzielen liessen, vermutlich auf Grund ähnlicher Mechanismen, scheint eine Verallgemeinerung der an Amphibien gewonnenen Einsichten zulässig zu sein. Wir wollen jedoch stets im Auge behalten, dass Rückbildungen und Verwachsungen von Skelettelementen auch andere entwicklungsphysiologische Ursachen haben können.

<sup>2</sup> Dies gilt namentlich für zahlreiche Säugerextremitäten: Bei Pferden und den fossilen *Proterotheriidae* Südamerikas ging die mächtige Entwicklung des III. mittleren Strahls schliesslich mit einer fast totalen Reduktion der übrigen Strahlen einher (SIMPSON 1951). Analog entwickelten sich die Extremitäten der Artiodactyla, von Ameisenfressern, Gürteltieren, Faultieren, Beuteltieren usw. (siehe RENSCH 1943, TSCHUMI 1953). Im Flügel der Flugsaurier ist die ausserordentliche Entwicklung des IV. Strahls vom totalen Ausfall des V. begleitet (JAECKEL 1915), und bei zahlreichen bipeden Sauriern ist die starke Entwicklung der mittleren Zehen mit der Rückbildung der V., in einigen Fällen auch der I. Zehe verknüpft.

Evolution des Pferdefusses haben Untersuchungen von ROBB (1936) ergeben, dass die Verkleinerung der seitlichen Strahlen II und IV von *Eohippus* bis zu den späteren 3-zehigen Typen Ausdruck ihres negativ allometrischen Wachstums ist. Beim Übergang zum ein-zehigen Typus wurde diese allometrischen Beziehungen wahrscheinlich dahin geändert, dass sich die relative Anlagengrösse der seitlichen Strahlen plötzlich verkleinert haben muss. Nach dem obengesagten könnte dies selbst ein Konkurrenzeffekt sein (infolge der selektiven Vergrösserung der mittleren Strahlen). Die vollständige Rückbildung von Zehen, wie sie bei den Pferden endlich doch erfolgte, kann kaum mehr mit Allometrie allein, wohl aber mit Auskonkurrenzierung verstanden werden.

#### b) DIE RÜCKBILDUNG VON STRAHLEN BEI DER RUDIMENTIERUNG DER EXTREMITÄTEN

Bei Vierfüssern, die zu kriechender, schlängelnder oder schwimmender Fortbewegung übergingen, wurden die Extremitäten oft vollständig oder auf unscheinbare Reste rückgebildet. Dies ist z. B. der Fall bei fossilen und rezenten Amphibien (paläozoische *Lepospondyli*, *Gymnophiona*, *Amphiumidae*, *Proteidae*), bei Schlangen und schlangenähnlichen Echsen, bei Walen usw.

Zunächst ist, in Übereinstimmung mit den experimentellen Ergebnissen, die Reduktion der Extremität mit einem Ausfall von Zehen verbunden. Die Gliedmasse wird nicht beliebig weit harmonisch verkleinert. Ferner verschwinden auch bei der phylogenetischen Verkümmern der Extremitäten in der Regel zuerst diejenigen Teile, die sich in der Ontogenese zuletzt differenzieren (siehe TSCHUMI 1957). Untersuchungen von SEWERTZOFF (1931) über die Reduktion der Gliedmassen bei schlangenähnlichen Echsen zeigen, dass mit diesen Rückbildungen Konkurrenzeffekte und namentlich eine Verkleinerung der Extremitätenknospe verknüpft sein könnten. Bei den Embryonen von *Ascalabotes fascicularis* (Vorderbein 5-fingrig), *Seps chalcides* (Vorderbein rudimentär, 3-fingrig) und *Ophiosaurus apus* (Vorderbein auf Rest des Stylopodiums reduziert) sind die Vorderbeinknospen entsprechender Embryonalstadien umso kleiner, je stärker die Extremität und damit die Zahl der Zehen reduziert wird (s. TSCHUMI 1953). Die



Beziehungen zwischen Blastemgrösse und Realisationsgrad der Extremität ist hier somit dieselbe wie im Experiment.

Nach RENSCH (1947, S. 222 u. f.) könnte die Gliedmassenreduktion bei den schlangenähnlichen Echsen selbst ein Konkurrenzeffekt sein, indem sie im allgemeinen umso stärker ist, je grösser die Zahl der präsakralen Wirbel, je länger also der Rumpf ist. Dass unabhängig davon noch negative Wachstumsallometrie beteiligt sein könnte, hält RENSCH für möglich.

Stammesgeschichtliche Rudimentierungen und experimentelle Rückbildung von Extremitäten haben somit vergleichbare Züge. Die Annahme einer gemeinsamen entwicklungsphysiologischen Grundlage wird dadurch sowie durch die folgenden Tatsachen bestärkt.

#### c) DIE MORPHOGENESE VON EXTREMITÄTEN MIT NORMALERWEISE REDUZIRTER ZEHENZAHL

Für die Annahme, dass bei stammesgeschichtlichen Reduktionen Konkurrenz im Spiel ist, spricht weiter die Tatsache, dass die Entwicklung der besprochenen behandelten Gliedmassen oft ähnlich verläuft wie diejenige von evoluierten Extremitäten mit reduzierter Zehenzahl. Auch bei diesen werden nämlich zahlreiche Elemente, die im erwachsenen Zustande fehlen, frühembryonal gleich angelegt wie andere Anlagen. Sie bleiben erst nachträglich in der Entwicklung zurück, verschmelzen mit benachbarten Elementen oder werden wieder rückgebildet.

Solche vorübergehende Anlagen von Extremitätenteilen finden sich bei verschiedensten Typen. Aus ihnen werden ja Rückschlüsse auf frühere phylogenetische Zustände gezogen (vergl. STEINER und STOLL, 1953, STEINER 1954).

So treten beispielsweise bei allen Tetrapoden embryonal mehr Hand- oder Fusswurzelelemente auf, als im adulten Zustand vorliegen (s. z. B. STEINER 1922, 1934, 1942; FISCHER 1926; SCHMIDT-EHRENBERG 1942). Ebenso werden bei Formen mit reduzierter Zehenzahl die in der Stammesgeschichte verloren gegangenen Strahlen embryonal noch angelegt. Es folgen hier einige Beispiele:

Das Meerschweinchen besitzt vorne 4 und hinten 3 Zehen. Embryonal werden hinten und vorn 5 Strahlen und ein Praepollex bzw. Praehallux angelegt (PETRI 1935, SCHMIDT-EHRENBERG 1942). Beim Rind werden von den 5 angelegten Strahlen der I. rudi-

mentär, und die Strahlen II und V bleiben in der Entwicklung stark zurück, wobei ihre Metapodien teilweise wieder reduziert werden und mit dem stark wachsenden Kanonenbein verschmelzen (POPOWA 1913, SCHMIDT-EHRENBURG 1942). Im embryonalen Pferdefuss werden auch an den Strahlen II und IV Phalangen angelegt (EWART 1894, KRÖLLING 1934). Ihre nachträgliche Rückbildung spricht für die Beteiligung von Konkurrenz bei ihrer phylogenetischen Reduktion. Bei *Bombinator* und *Amblystoma* wurden in der Hand je die Anlage eines V. Fingers nachgewiesen (STEINER 1921) und desgleichen bei der 4-zehigen *Salamandrella* die Anlage einer V. Zehe (SCHMALHAUSEN 1910). Vorübergehende Strahlenanlagen konnte SEWERTZOFF (1931) auch bei der Entwicklung der reduzierten Gliedmassen von *Seps* nachweisen, und endlich werden sowohl im Entenflügel wie auch in der Hinterextremität der Vögel 5 Strahlen angelegt (SIEGELBAUER 1911, STEINER 1922, LUTZ 1942).

Diese Beispiele veranschaulichen deutlich, wie auch bei der phylogenetischen Reduktion der Gliedmassen nicht in erster Linie das primäre Anlagenmuster abgeändert wird, sondern wie vielmehr der schon sichtbar angelegte primitive Bauplan erst nachträglich modifiziert wird. Hierin besteht wohl eine der auffallendsten Ähnlichkeiten zwischen experimentellen und stammesgeschichtlichen Gliedmassenreduktionen, und die Annahme, dass auch die letzteren zum Teil wenigstens eine Folge der während der Morphogenese wirksamen Konkurrenz sind, gewinnt dadurch weiter an Wahrscheinlichkeit. Diese Annahme ist umso mehr berechtigt, als die normogenetische Rückbildung von Anlagen sehr oft mit dem gleichzeitigen stärkeren Wachstum benachbarter Anlagen einhergeht, und als ferner auch im Experiment harmonische und funktionstüchtige Beine entstanden (s. TSCHUMI 1954).

Die besprochenen Versuche geben somit die Möglichkeit, das Verhalten der Anlagen von Rudimenten während der Entwicklung zu deuten (vergl. STEINER und STOLL 1953, S. 479). Darauf, dass den vorübergehenden Anlagen entwicklungsphysiologische Funktionen zufallen könnte, hatte schon LEHMANN (1938) hingewiesen.

#### d) DIE RÜCKBILDUNG VON PHALANGEN

Die Strahlen behandelter *Xenopus*-Extremitäten sind meist etwas verkürzt. Dabei wird aber nicht der ganze Strahl harmonisch

verkleinert, sondern es fallen mit zunehmender Verkürzung sukzessive einzelne Phalangen aus. Die Phalangen verhalten sich ähnlich wie der ganze Strahl: sie sind entweder nur wenig verkürzt, oder fehlen überhaupt. Hin und wieder kommen aber doch stark verkürzte Phalangen vor, frei oder mit benachbarten Phalangen verwachsen (Abb. 3 A). Dank diesem Umstand liess sich ermitteln, dass, entgegen der Erwartung, nicht immer Endphalangen reduziert werden. Bei bekrallten Zehen werden sogar öfter mittelständige Phalangen rückgebildet.

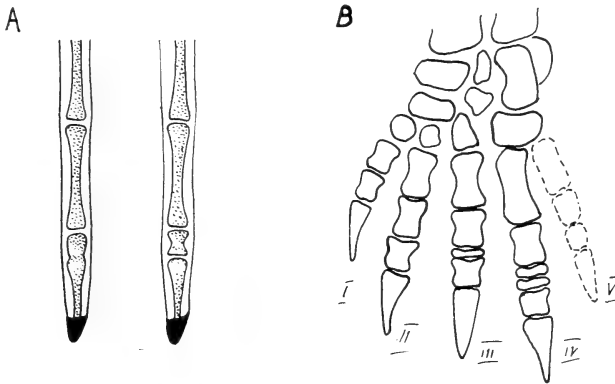


Abb. 3.

- A. Bei behandelten *Xenopus*-Beinen werden gelegentlich mittelständige Phalangen rückgebildet bzw. stark verkürzt.  
 B. Handskelett von *Lycaenops ornatus* Broom mit stark verkürzten mittelständigen Phalangen.

Vermutlich steht diese relativ häufige Rückbildung mittelständiger Phalangen damit im Zusammenhang, dass sie sich nach ihrer Entstehung etwas langsamer entwickeln als die End- und Grundphalangen und daher von diesen leichter auskonkurrenziert werden. Bei *Xenopus* verknöchern die Mittelphalangen oft zuletzt (BERNASCONI 1951); dasselbe gilt auch für Säuger, wie etwa Meer-schweinchen und Mensch.

Nun sind auch im Laufe der Stammesgeschichte häufig Phalangen reduziert worden, dies stets in Verbindung mit einer Verkürzung von Strahlen. Dabei wurden ebenfalls häufig mittelständige Phalangen rückgebildet (s. STEINER und ANDERS 1946). Dies fand

z. B. beim Übergang von den Reptilien zu den Säugern statt und kann bei den säugerähnlichen Reptilien (BROOM 1913, 1930) verfolgt werden. Die ursprüngliche Reptilien-Phalangenformel ist 2 3 4 5 3 (z. B. bei Pelycosauriern). Unter den säugerähnlichen Reptilien finden sich evoluierte Formen mit der für Säuger typischen Phalangenformel von 2 3 3 3 3 (*Anomodontia* u. a.). Daneben existierten mehrere Typen, die wohl gleich viele Phalangen wie primitive Reptilien, in der III. und IV. Zehe aber eine bzw. zwei stark verkürzte mittelständige Phalangen besaßen (*Scymnognatus*, *Lycaenops* u. a., s. Abb. 3 B). Die Verkürzung dieser Phalangen erfolgte sprunghaft, und ebenso sprunghaft war, wie BROOM feststellt, ihr totaler Verlust. Die Reduktion braucht somit bei experimentellen und bei phylogenetischen Rückbildungen nicht nur schwach oder total zu sein sondern kann gelegentlich bei einer stabilen Zwischenstufe stehen bleiben.

Es könnten somit auch die stammesgeschichtlichen Phalangenrückbildungen die entwicklungsphysiologische Konsequenz einer Verkürzung des Strahles als Ganzes sein und auf einem Konkurrenzphänomen beruhen. Zu ihrer Erklärung bedarf es nicht unbedingt primär an den betreffenden Phalangen angreifender Mutationen (vergl. S. 231/232).

#### e) DIE RÜCKBILDUNG DER TARSALELEMENTE

In der Stammesgeschichte sind Fuss- und Handwurzel häufig reduziert worden, indem Elemente miteinander oder mit Metapodien verschmolzen oder ganz rückgebildet wurden. An ihrer Rückbildung mögen verschiedene Faktoren beteiligt gewesen sein. Die in den besprochenen Experimenten häufige Rückbildung oder Verschmelzung von Fusswurzelementen (s. TSCHUMI 1954) lässt z. T. auch hier an Konkurrenzeffekte denken. Das kleine Tarsale 1 z. B. fällt aus, bevor es zu Zehenausfällen kommt. Die Annahme einer Auskonkurrenzierung von Mittelhand und Mittelfuss ist schon deshalb naheliegend, weil ihre spät verknöchernden Elemente zwischen Extremitätenteilen liegen, die stammesgeschichtlich eine starke Entwicklung erfuhren. Es ist ja auffallend, wie die Urodelen mit ihren relativ kleinen, kurzstrahligen Gliedmassen ein noch sehr umfangreiches und primitives Basipodium besitzen. Umgekehrt

fehlen im Anurenfuss u. a. diejenigen Tarsalia (4 und 5), die zwischen den zuerst entstehenden und längsten Zehen und dem mächtig entwickelten Calcaneus liegen sollten.

Hervorzuheben ist bei unseren Versuchen das Verhalten des Praehalluxträgers (s. Abb. 4). Er zerfällt schon bei mässiger Reduktion des Fusses in 2 Elemente, vermutlich in seine ursprünglichen Komponenten Tarsale prae-hallucis und Centrale distale 1 (SCHMALHAUSEN 1908). Dieses der üblichen Verschmelzung entgegengesetzte Phänomen findet sich auch bei phylogenetischen Rückbildungen. Bei den Sauriern verschmelzen die proximalen Tarsalia (Fibulare, Tibiale und Centrale) zu einem einheitlichen Tarsale commune. Bei der stark rudimentären Extremität von *Ophiodes striatus* liegen diese 3 Elemente getrennt vor (SEWERTZOFF 1931). Wiederum bei Sauriern verschmilzt normalerweise das Tarsale 2 mit dem Metatarsus II. In der reduzierten Extremität von *Chalcides sphepsiformis* sind die erwähnten Teile getrennt (STEINER UND ANDERS 1946). Wie die letztgenannten Autoren bemerken, findet mit zunehmender Rudimentierung die Verschmelzung ursprünglich selbständiger Elemente nicht mehr statt. Dass sich diese Erscheinung auch experimentell reproduzieren liess, lässt einmal mehr gemeinsame entwicklungsphysiologische Faktoren vermuten.

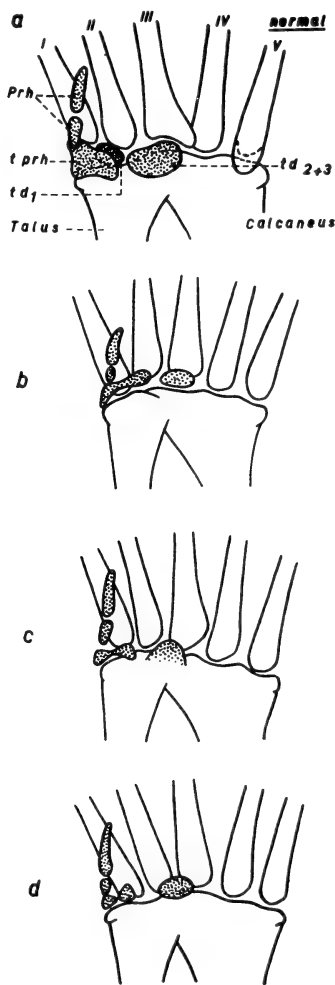


ABB. 4.

- a) normaler Tarsus von *Xenopus*.  
b-d) verschiedengradig reduzierter Tarsus behandelter Beine.  
Beachte: Zerfall des Praehallux-trägers (t prh) in zwei Elemente.

#### 4. GESTUFTE REDUKTION UND SPRUNGHAFTE EVOLUTIONSSCHRITTE

Es wurde schon angedeutet, dass die verbleibenden Elemente experimentell reduzierter Gliedmassen meistens etwas verkürzt sind. Bei einer Zusammenstellung der Reduktionsgrade einer grossen Zahl von Zehen stellte sich heraus, dass die Zehen entweder nur schwach verkürzt sind oder dann vollständig fehlen (s. BRETSCHER und TSCHUMI 1951, TSCHUMI 1954). Stark verkürzte Zehen sind viel seltener, als nach gleichmässig variierender Behandlung zu erwarten wäre (s. Abb. 5).

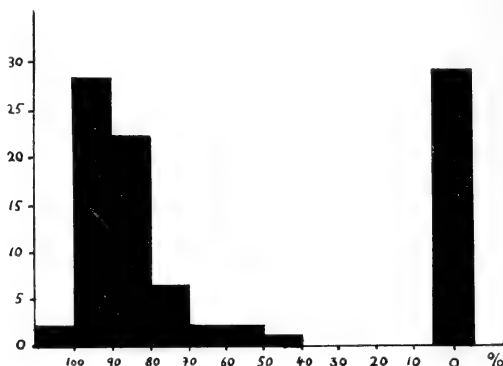


ABB. 5.

Gestufte Reduktion der I. Zehe behandelter *Xenopus*-Beine.  
 Ordinate: Zahl der Fälle. Abszisse: Reduktionsgrad der Zehe.  
 (100% = normale Länge, 0 = Fehlen der Zehe).

Diese gestufte Reduktion kann interpretiert werden durch den auf S. 219 dargelegten Reduktionsmechanismus. Aus relativ grossen Strahlenanlagen entstehen in der Regel grosse Zehen; kleine oder verspätete Anlagen dagegen werden leicht auskonkurrenziert und kommen daher seltener zu selbständiger Entwicklung. Die Anlagen müssen eine bestimmte, auf stärkere Konkurrenten bezogene relative Minimalgrösse, gleichsam also eine entwicklungsphysiologische Schwelle (s. LEHMANN 1953), überschreiten, um vollwertige Strahlen bilden zu können.

Aus einer Zusammenstellung der Ausfallhäufigkeiten der Zehen ging hervor, dass auch der Fuss als Ganzes die Tendenz hat, entweder nur wenig reduziert zu sein oder dann ganz zu fehlen. 4-5-zehige Füße einerseits und fusslose Beinstummel andererseits sind relativ häufig, Füße mit nur 3 oder weniger Zehen dagegen selten. Eine Erklärung hierfür bietet, analog wie bei den Zehen, die Annahme einer Konkurrenz zwischen Palette und Beinstamm und damit korreliert von Schwellenphänomenen.

Die behandelten Gliedmassen liegen somit in einer Reihe wohldefinierter Realisationsstufen (LEHMANN 1948, 1953) vor, wobei Übergangsformen relativ selten vorkommen.

GRÜNEBERG (1951, 1952) hat ein ähnliches Verhalten erblicher Skelett- und Zahnanomalien bei Mäusen festgestellt, namentlich bei einem Mäusestamm, der durch häufigen Ausfall des III. Molars gekennzeichnet ist. Entweder ist dieser Zahn in etwas unternormaler Grösse vorhanden, oder er fehlt überhaupt. Zähne unterhalb einer gewissen Grösse kommen entgegen der Erwartung nicht vor. Vermutlich geht auch diese erblich bedingte Stufung auf Konkurrenz- und Schwelleneffekte zurück, indem beim untersuchten Mäusestamm der I. zuerst entstehende Molar grösser ist als normal und, wie GRÜNEBERG vermutet, bei seiner Entstehung zuviel Material verbraucht. Aus der dadurch beeinträchtigten Dentalpapille des III. Molars wird aber umso unwahrscheinlicher ein Zahn entstehen, je kleiner diese Anlage wird. Diesen „quasi continuous variations“ liegt wohl eine kontinuierlich variierende genetische Grundlage mit multiplen Faktoren zugrunde. Die Diskontinuität der Phänotypen ist also nicht genetischer sondern, wie in unserem Fall, entwicklungsphysiologischer Natur.

Der Gedanke ist naheliegend, dass mit diesen Stufen- und Schwellenphänomenen die Sprunghaftigkeit gewisser stammesgeschichtlicher Formwandlungen, sofern sie nicht auf lückenhafte Überlieferung zurückgeht, im Zusammenhang steht. Die Diskontinuität phylogenetischer Reduktionen oder Neubildungen könnte das entwicklungsphysiologische Ergebnis einer allmählichen Evolution korrelierter Strukturen sein. Sie braucht nicht auf sprunghafte Variation der genetischen Basis zurückzugehen sondern kann auch bei einer sukzessiven Summierung kleinster Mutationsschritte (s. HUXLEY 1942, S. 115 u. 371; STEINER 1952, 1954; SIMPSON 1953 S. 88 u. f.) als Schwelleneffekt zustandekommen. So liesse sich

die wahrscheinlich sprunghafte Rückbildung von Strahlen bei der Evolution der Pferdeextremität als Auswirkung der nicht notwendig sprunghaften Vergrößerung der Mittelstrahlen verstehen, oder die ebenfalls sprunghafte Rückbildung der verkürzten Phalangen bei säugerähnlichen Reptilien als Folge einer ebenfalls nicht unbedingt sprunghaften Verkürzung des ganzen Strahls.

Wir verstehen hier unter Sprunghaftigkeit die alternative Ausbildung bestimmter Merkmale bei verschiedenen Individuen einer Population. Die allmähliche Anhäufung der einen Alternative auf Kosten der andern innerhalb der Population kann doch wieder eine allmähliche Evolution derselben gewährleisten (vergl. SIMPSON 1953). Durch unsere Vorstellungen würde aber das Fehlen oder doch die Seltenheit gewisser morphologischer Übergangsformen verständlich.

## 5. RÜCKBLICK

Mit Hilfe einer antimitotischen und zell-letalen Substanz liess sich bei *Xenopus* eine Verkleinerung der Extremitätenknospe und als Folge davon die Rückbildung einzelner Strahlen, von Phalangen, Fusswurzelementen, des ganzen Fusses oder zusätzlich von Beinstammteilen erzielen. Dieser disharmonischen und gestuften Reduktion der Extremität liegen vermutlich physiologische Konkurrenz und Schwellenphänomene zugrunde.

Die experimentellen Reduktionen sind in mancher Hinsicht mit stammesgeschichtlichen Rudimentierungen bei Vierfüsser-Extremitäten vergleichbar. Dies legt die Vermutung nahe, dass auch phylogenetische Reduktionen Konkurrenzeffekte sein könnten. Einige davon sind sogar mit Blastemverkleinerung gekoppelt. Damit erweist sich auch das Problem der phylogenetischen Rudimentierung als einer Analyse durch das Experiment zugänglich.

Die Diskontinuität der experimentellen Reduktionsreihen scheint eine Erklärung für die Sprunghaftigkeit gewisser stammesgeschichtlicher Formwandlungen zu bieten. Sprunghafte Evolutionsschritte könnten durch Summierung kleinster Mutationen und bei allmählicher Veränderung miteinander korrelierter Strukturen als Schwellen- und Konkurrenzeffekte zustandekommen. Sie können daher, vom Standpunkt des Entwicklungsphysiologen aus gesehen, durchaus reelle Phänomene darstellen und brauchen



nicht ausschliesslich durch die Lückenhaftigkeit paläontologischer Funde vorgetäuscht zu sein. Die Vorstellung der saltatorischen Evolution gewisser Strukturen ist somit durchaus vereinbar mit der neodarwinistischen oder synthetischen Auffassung der Stammesgeschichte. Die Ursachen der Entwicklungssprünge sollten nur nicht in erster Linie auf genetischer sondern auf entwicklungsphysiologischer Ebene gesucht werden.

Aus den besprochenen Versuchen ergeben sich auch Einsichten von allgemeiner Tragweite. Wir haben gesehen, wie nach einem unspezifischen Eingriff in die Entwicklung eines Blastems Organumkonstruktionen auch grösseren Umfangs möglich sind. In mehreren Fällen entstanden in sich harmonische und funktionstüchtige Extremitäten mit verändertem Bauplan. Dies ist vor allem der weiten entwicklungsphysiologischen Reaktionsnorm oder der grossen Plastizität embryonaler Systeme mit Feldcharakter zuzuschreiben. Dank dieser Plastizität stürzen auch schwerwiegende Störungen die weitere Entwicklung nicht um sondern leiten sie gleichsam auf andere, doch zu einem vitalen Endzustande führende Geleise. Diese bei Experimenten immer wieder auffallende Eigenschaft ist für die Evolution sicher von grösster Bedeutung, indem zahlreiche richtungslose und zufällige Mutationen zu biologisch tragbaren Änderungen führen. Dies zeigt, wie nebst der Erbmasse auch die Eigenschaften des reagierenden embryonalen Substrats massgebend sind.

Endlich wird hier deutlich, wie sich die Veränderung allgemeiner Entwicklungsbedingungen mosaikartig auswirken kann infolge korrelativer Wechselbeziehungen zwischen Organanlagen. Die lokalen Defekte bei behandelten Extremitäten gehen nicht auf entsprechend lokale Eingriffe zurück, sondern sie ergeben sich erst im Laufe der Entwicklung nach Störung der ganzen blastematischen Anlage.

Zu entsprechenden Vorstellungen ist man auch auf genetischer Seite bei der Erforschung letaler und pleiotroper Genwirkungen gekommen (s. HADORN 1951a, b, 1953). Auch hier erweist sich ein komplexes Muster sog. sekundärer Phäne oft als entwicklungsphysiologische Konsequenz der Störung eines allgemeineren primären Vorgangs durch eine Mutation. Lokalisierte Phäne können sich infolge „geringen genbedingten Änderungen in der Dynamik des Wachstums- und Differenzierungsverlaufes“ ergeben, „ohne

dass der betreffenden Stelle ein Spezialmechanismus zukäme“ (Hadorn 1953).

Für die Probleme der Evolution kann dies bedeuten, dass die Veränderung bestimmter Organe nicht notwendig auf entsprechend lokal wirkende Gene zurückgehen muss. Dass bei der phylogenetischen Rückbildung einzelner Strahlen, Phalangen usw. nicht Gene, die diesen Abschnitten direkt zugeordnet sind, verloren gingen oder mutierten, hat die vorliegende Diskussion wahrscheinlich gemacht.

Damit erfährt die frühere Auffassung einer unmittelbaren Zuordnung von Genen zu einzelnen Merkmalen eine Lockerung. In Verbindung mit der erörterten Bedeutung des Konkurrenzprinzips und der Plastizität embryonaler Systeme lässt dies wiederum eine gewisse Vereinfachung unserer Vorstellungen von stammesgeschichtlichen Wandlungen durchblicken. Komplexe mosaikartige Abänderungen im Bauplan der Gliedmassen erfordern nicht unbedingt die Mutation mehrerer Gene, die jedem einzelnen Element zugeordnet und aufeinander abgestimmt sind. Sie können vielmehr durch die erbliche Modifikation eines oder weniger allgemeiner Entwicklungsfaktoren zustande kommen.

## RÉSUMÉ

L'évolution biologique est devenue, grâce au néodarwinisme, un problème essentiellement génétique. Néanmoins, l'interprétation de certaines transformations phylogénétiques n'est possible qu'au moyen de données, entre autres, de biométrie et d'embryologie expérimentale. Le traitement de bourgeons de pattes de *Xénopus* par des substances antimitotiques ayant produit la rudimentation ou la réduction totale d'orteils, de phalanges, d'éléments tarsaux, réductions analogues à celles qui se produisirent lors de l'évolution, une interprétation de ces dernières sur la base des résultats expérimentaux s'imposait. Il semble que les réductions expérimentales soient le résultat d'une compétition entre diverses ébauches embryonnaires. Une telle compétition désavantage les éléments à apparition tardive et à croissance faible et entraîne leur réduction. Elle peut donc causer des rudimentations évolutives sans que des mutations à action locale doivent nécessairement intervenir.

Ces résultats laissent entrevoir une explication simplifiée du mécanisme de bien des transformations phylogénétiques.

## SUMMARY

Biological evolution is, in the view of neodarwinism, essentially a genetical problem. The understanding of certain evolutionary processes, however, depends, amongst others, upon contributions from biometry and experimental embryology. The reduction or rudimentation of toes, phalanges and tarsals, which followed treatment of limb buds of *Xenopus* with antimetabolic substances, proved in many ways comparable with phylogenetic reductions and suggested a possible explanation for them. The experimental reductions are probably the result of a physiological competition between different embryonic primordia. In such a competition those elements which appear late and the growth rate of which is low, are disadvantaged and tend to be reduced. Evolutionary regressions might therefore also be interpreted in terms of physiological competition. They might be the outcome of the alteration of only few general developmental conditions and do not require the occurrence of numerous mutations with localized effects.

## LITERATUR

- BALTZER, F. 1950. *Entwicklungsphysiologische Betrachtungen über Probleme der Homologie und Evolution*. Rev. suisse Zool. 57: 451-477.
- 1952. *Experimentelle Beiträge zur Frage der Homologie*. Experimentia 8: 285-297.
- DE BEER, G. R. 1951. *Embryos and Ancestors*. Oxford Univ. Press.
- BERNASCONI, A. F. 1951. *Über den Ossifikationsmodus bei Xenopus laevis Daud.* Denkschr. Schweiz. Naturf. Ges. 79: 190-252.
- BRETSCHER, A. 1947. *Reduktion der Zehenzahl bei Xenopus-Larven nach lokaler Colchicinbehandlung*. Rev. suisse Zool. 54: 273-279.
- 1949. *Die Hinterbeinentwicklung von Xenopus laevis Daud. und ihre Beeinflussung durch Colchicin*. Rev. suisse Zool. 56: 33-96.
- 1950. *Experimentelle Unterdrückung der Polydactylie beim Hühnchen*. Rev. suisse Zool. 57: 576-583.

- BRETSCHER, A. 1951. *Vergleich der Beinentwicklung von vier Hühner-rassen nach Colchicinbehandlung*. Rev. suisse Zool. 58: 462-470.
- und TSCHUMI, P. 1951. *Gestufte Reduktion von chemisch behandelten Xenopus-Beinen*. Rev. suisse Zool. 58: 391-398.
- BROOM, R. 1913. *The origin of the Mammalian digital formula*. Anat. Anz. 43: 230-232.
- 1930. *On the structure of the Mammal-like Reptiles of the suborder Gorgonopsia*. Philos. Trans. B. 218: 345-371.
- EWART, J. C. 1894. *The second and fourth digits in the horse*. Proc. roy. Soc. Edinb. 20: 185-191.
- FISCHER, E. 1926. *Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung des Carpus und Tarsus der Anuren*. Jahrb. phil. Fak. II. Bern 7: 1-37.
- GABRIEL, M. L. 1946. *The effect of local applications of Colchicine on Leghorn and polydactylous chick embryos*. J. exp. Zool. 101: 339-350.
- GRÜNEBERG, H. 1951. *The genetics of a tooth defect in the mouse*. Proc. roy. Soc. B. 138: 437-451.
- 1952. *Genetical studies on the skeleton of the mouse: Quasi-continuous variations*. J. Genet. 51: 95-114.
- GUYÉNOT, E. 1927. *Le problème morphogénétique dans la régénération des Urodèles*. Rev. suisse Zool. 34: 127-154.
- et SCHOTTÉ, O. 1923. *Relation entre la masse du bourgeon de régénération et la morphologie du régénérat*. C.R. Soc. Biol. Paris 89: 491-493.
- HADORN, E. 1951. a. *Developmental action of lethal factors in Drosophila*. Advanc. Genet. 4: 53-85.
- 1951b. *Beeinflussung der Drosophila-Entwicklung durch Mutation im Experiment*. Verh. Deutsch. Zool. Ges. Wilhelms-haven: 29-42.
- 1953. *Genetik und Entwicklungsphysiologie*. Naturw. 40: 85-96.
- HEBERER, G. 1959. *Theorie der Additiven Typogenese*. in HEBERER, G. *Die Evolution der Organismen*. 2. Aufl. 857-914. Fischer, Stuttg.
- HUXLEY, J. S. 1932. *Problems of relative growth*. London, Methuen.
- 1942. *Evolution*. G. Allen and Unwin, London.
- JAECKEL, O. 1915. *Die Flügelbildung der Flugsaurier und Vögel*. Anat. Anz. 48: 1-19.
- KRÖLLING, O. 1934. *Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Metapodien bei den Equiden im Lichte des biogenetischen Grundgesetzes*. Verh. Zool. Bot. Ges. Wien 84: 38-41.
- LEHMANN, F. E. 1938. *Die morphologische Rekapitulation des Grundplanes der Wirbeltierembryonen und ihre entwicklungsphysiologische Bedeutung*. Vierteljahrsschr. naturf. Ges. Zürich 83: 187-192.
1946. *Über die entwicklungsphysiologische Wirkung des Colchicins*. Arch. Jul. Klaus-Stiftg. 21: 305-307.

- LEHMANN, F. E. 1948. *Realisationsstufen in der Ontogenese als entwicklungsphysiologisches und genetisches Problem*. Arch. Jul. Klaus-Stiftg. 23: 568-573.
- 1953. *Konkurrenz- und Schwelleneffekte bei der Realisierung tierischer Körper und Organgestalten*. Rev. suisse Zool. 60: 490-496.
- LUTZ, H. 1942. *Beitrag zur Stammesgeschichte der Ratiten*. Rev. suisse Zool. 49: 299-399.
- METTETAL, C. 1939. *La régénération des membres chez la Salamandre et le Triton*. Arch. Anat. Hist. Embr. 28: 1-214.
- PETRI, C. 1935. *Die Skelettentwicklung beim Meerschwein*. Vierteljahrsschr. Naturf. Ges. Zürich 80: 157-240.
- POPOWA, N. 1913. *Zur Morphologie des Extremitätenskeletts der Artiodactyla Sus und Bos*. Anat. Anz. 43: 279-283.
- RENSCH, B. 1943. *Die biologischen Beweismittel der Abstammungslehre*. in HEBERER: *Die Evolution der Organismen*. Fischer, Jena. 57-85.
- 1947. *Neuere Probleme der Abstammungslehre*. Enke, Stuttgart.
- 1954. Idem. 2. Aufl. Enke, Stuttgart.
- 1959. *Die phylogenetische Abwandlung der Ontogenese*. in HEBERER: *Die Evolution der Organismen*. Fischer, Stuttgart.
- ROBB, R. C. 1935. *A study of mutations in evolution. I. Evolution in the equine skull. II. Ontogeny in the equine skull*. J. Genet. 31: 39-52.
- 1936. *A study of mutations in evolution. III. The evolution of the equine foot*. J. Genet. 33: 267-273.
- ROSE, S. M. 1952. *A hierarchy of self-limiting reactions as the basis of cellular differentiation and growth control*. Amer. Nat. 86: 337-364.
- SCHMALHAUSEN, J. J. 1908. *Die Entwicklung des Skeletts der hinteren Extremität der anuren Amphibien*. Anat. Anz. 33: 337-344.
- 1910. *Die Entwicklung des Extremitätenskeletts von Salamandrella Kayserlingii*. Anat. Anz. 37: 431-446.
- SCHMIDT-EHRENBERG, E. C. 1942. *Die Embryogenese der Extremitäten der Säugetiere*. Rev. suisse Zool. 49: 33-132.
- SCHUÉ, M. 1951. *L'action des rayons X sur le développement des ébauches des pattes chez l'embryon de poulet*. C.R. Soc. Biol. 145: 752.
- SEWERTZOFF, A. N. 1936. *Morphologische Gesetzmässigkeiten der Evolution*. Fischer, Jena.
- SIEGELBAUER, F. 1911. *Zur Entwicklung der Vogelextremität*. Zeitschr. wiss. Zool. 97: 262-313.
- SIMPSON, G. G. 1951. *Horses*. Oxford Univ. Press, New York.
- 1953. *The major features of evolution*. Columbia Univ. Press, New York.

- SPIEGELMAN, S. 1945. *Physiological competition as a regulatory mechanism in morphogenesis*. Quart. Rev. Biol. 20: 121-146.
- STEINER, H. 1921. *Hand und Fuss der Amphibien*. Anat. Anz. 53: 513-542.
- 1922. *Die ontogenetische und phylogenetische Entwicklung des Vogelflügelskeletts*. Acta Zool. 3: 307-360.
- 1934. *Über die embryonale Hand- und Fuss-Skelettanlage bei den Crocodiliern, sowie über ihre Beziehungen zur Vogelflügelanlage und zur ursprünglichen Tetrapoden-Extremität*. Rev. suisse Zool. 41: 383-396.
- 1942. *Der Aufbau des Säugetier-Carpus und -Tarsus nach neueren embryologischen Untersuchungen*. Rev. suisse Zool. 49: 217-223.
- 1952. *Mikro- und Makroevolution, der Standpunkt des Biologen*. Ber. Schweiz. Paläontol. Ges. 31. Jahresvers. 365-374.
- 1954. *Die Bedeutung des Homologiebegriffes für die Biologie*. Vierteljahrsschr. Naturf. Ges. Zürich 99: 1-19.
- und ANDERS, G. 1946. *Zur Frage der Entstehung von Rudimenten*. Rev. suisse Zool. 53: 537-546.
- und STOLL, E. 1953. *Die Krallen und Hornpapillen des Pyrenäenmolches, Euproctus asper*. Rev. suisse Zool. 60: 472-482.
- STOCKARD, C. R. 1921. *Developmental rate and structural expression*. Amer. J. Anat. 28: 115-277.
- TARDENT, P. 1961. *Hemmung und Konkurrenz als formbildende Faktoren bei Invertebraten*. Verh. Schweiz. Naturf. Ges. 133.
- TSCHUMI, P. A. 1953. *Ontogenetische Realisationsstufen der Extremitäten bei Xenopus und die Interpretation phylogenetischer Strahlenreduktionen bei Wirbeltieren*. Rev. suisse Zool. 60: 496-506.
- 1954. *Konkurrenzbedingte Rückbildungen der Hinterextremität von Xenopus nach Behandlung mit einem Chloräthylamin*. Rev. suisse Zool. 61: 177-270.
- 1957. *The growth of the hindlimb bud of Xenopus laevis and its dependence upon the epidermis*. J. Anat. 91: 149-173.
- WEISS, P. 1939. *Principles of development*. Holt, New York.

Erste Ergebnisse vergleichender Messungen  
am Schädel des eiszeitlichen,  
in der Schweiz gefundenen Murmeltiers  
*Marmota marmota*

von

**Franz MICHEL**

Thun <sup>1</sup>

Mit 1 Textabbildung und 8 Diagrammen.

Im schweizerischen Mittelland und sehr selten auch in den benachbarten Juratälern können im Bereich der eiszeitlichen Rhone- und Aaregletscher in geeignetem Material — Sande, Schotter, Moränen — hie und da alte Fluchtröhren und Wohnkessel mit Knochen des Murmeltiers — *Marmota marmota* (L.) — gefunden werden. Zum ersten Mal wurde durch A. v. MORLOT im Jahr 1854 ein solcher Fund von Montbenon (Lausanne) gemeldet (nach DUBOIS A. et STEHLIN H. G. 1932/33). Seither konnten, abseits von vorgeschichtlichen menschlichen Siedlungen, an über vierzig Orten Murmeltierknochen gefunden werden. So auch im Spätherbst 1960 in Uttigen bei Thun, wo man — obgleich es sich nicht um eine grosse Ausbeute handelt — immerhin 108 Knochen und Teile von solchen bergen konnte; sie wurden mir zum Beschreiben überlassen (MICHEL 1962). Schon bei dieser Arbeit verglich ich das Material mit anderen Funden des Mittellandes und auch mit dem Murmeltier der Gegenwart. Bei den weitergeführten Messungen konnte vorerst nur der Schädel berücksichtigt werden. Den Leitern der naturhistorischen Museen und Sammlungen in Basel, Zofingen,

---

<sup>1</sup> Göttibach 3.

Burgdorf, Bern, Freiburg, Lausanne und Genf danke ich herzlich, denn durch ihr verständnisvolles Entgegenkommen wurde es möglich, achtundsiebzig mehr oder weniger vollständige Oberschädel zu vergleichen und einer kleinen — und dadurch leider den Zweck nicht gänzlich erfüllenden — Sammlung rezenter Schädel gegenüberzustellen.

## DIE HIER BERÜCKSICHTIGTEN SCHÄDELMASSE

Als Bezugsgrösse dient die Schädellänge, und zwar nach dem Vorgehen von R. HENSEL (1881) die Basilarlänge. Dies ist die Strecke zwischen dem Hinterrand des inneren Schneidezahnfaches und dem unteren Rand des Hinterhauptlochs, dem Basion. Ihr Wert ist 100% oder als Index einfach 100.

Die Gesichtsschädellänge messe ich vom Vorderrand des Nagezahnfachs bis zur Tangente an die Processus postorbitales des Stirnbeins. Die Hirnschädellänge reicht von dieser Grenzlinie bis zur scharfen Kante des Hinterhaupts, der Linea nuchalis. Die Hirnschädeldiagonale zieht von der Grenztangente zum oberen Rand des Hinterhauptlochs, dem Opisthion.

Der Durchmesser der Augenhöhle, der Orbita geht von vorne, wo eine deutliche Naht in die Höhlung eintritt, nach hinten, wo die Höhle verhältnismässig scharf an die Gelenkfläche für den Unterkiefer grenzt.

Die übrigen Masse können aus der Abb. 1 ersehen werden.

## DIE GRÖSSENVERHÄLTNISSE

Das heutige Murmeltier der Alpen ist, wie erwähnt, durch die zur Verfügung stehende Auswahl nicht genügend vertreten. So stellt der grösste Schädel mit der Basilarlänge 84,6 mm auch nicht das Maximum dar. WEHRLI (1935a) gibt dafür 88,4 mm an. Für das diluviale Murmeltier nennt WEHRLI (1935b) einen gut erhaltenen Fund von Kottenheim im Neuwieder-Becken (Unterlauf der Mosel) mit der Basilarlänge von 96,8 mm, der grössten, die bekannt geworden ist.

An diesem Höchstwert aus Deutschland gemessen, erreicht das rezente Murmeltier maximal 91,3%; verglichen mit dem grössten



hier vorkommenden diluvialen Schädel aus dem schweizerischen Mittelland ergibt das Maximum der rezenten Schädel beinahe 94%.

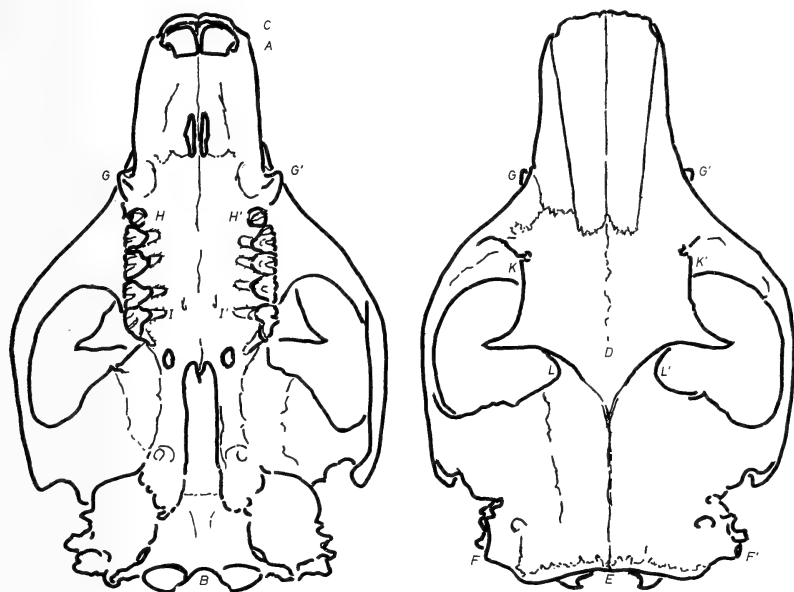


ABB. 1.

Scheitel- und Ventralansicht des Schädels des diluvialen Murmeltiers. A—B = Basilarlänge, C—D = Gesichtsschädellänge, D—E = Hirnschädellänge, F—F' = Hirnschädelbreite, G—G' = Breite des Maxillare, H—H' = Breite des Kiefers beim 1. Praemolaren, I—I' = Kieferbreite beim 3. Molaren, K—K' = Breite des Frontale, L—L' = Schläfenenge.

Hier sei nur erwähnt, dass dieses Kleinerwerden des Murmeltiers seit der Eiszeit als Reaktion auf die klimatische Temperaturerhöhung gedeutet werden könnte; also ein Verhalten im Sinne der Bergmannschen Regel in einem Zeitraum von Jahrtausenden (MICHEL 1962).

### EINIGE ERGEBNISSE

In dieser Mitteilung können Masstabellen nicht veröffentlicht werden. An ihre Stelle treten, naturgemäss nicht als vollwertiger Ersatz, auszugsweise graphische Darstellungen. Dabei sind die Masse für die diluvialen Schädel nach Fundorten gruppiert.

## 1. DIE LÄNGE DES GESICHTS- UND DES HIRNSCHÄDELS

Der kleinste rezente Schädel stammt von einem in der Phase des Zahnwechsels stehenden Weibchen. Seine Basilarlänge von 55,1 mm macht 65% des grössten Schädels mit 84,6 mm aus, der

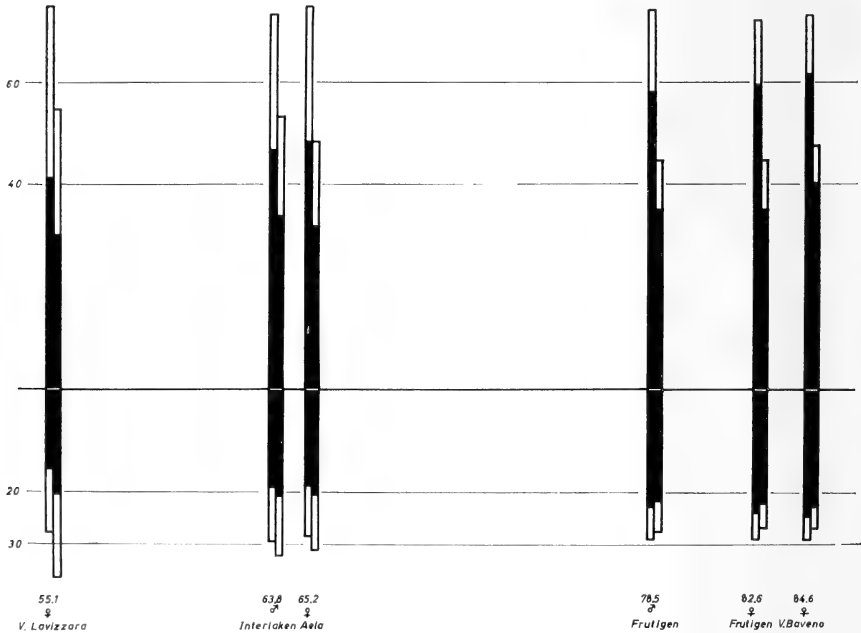


ABB. 2.

Rezentes Murmeltier. Basilarlänge in mm nach rechts steigend. Von der Abzisse nach oben, links die Gesichtsschädellänge, rechts die Hirnschädellänge; nach unten, links das Diastema, rechts die Zahnreihenlänge. Schwarz sind Längen in mm, weiss Prozentwerte.

ebenfalls weiblich ist. Die Werte des Gesichtsschädels nehmen den Raum zwischen 72 und 75 ein, wobei die höchsten Werte jedoch nicht zu den grössten Schädeln gehören. Es ist somit an isometrisches Wachstum mit diesem Schwankungsbereich zu denken. Für den Hirnschädel sinkt der Wert von 55, beim jüngsten Tier, bis auf 45. Damit zeugt diese Schädelreihe für negativ allometrisches Wachstum. Obgleich also der Gesichtsschädel isometrisch wächst, übertrifft er mit zunehmender Grösse den Hirnschädel im Verhält-

nis immer mehr. Beim jüngsten Tier macht dieser 73% des Gesichtsschädels aus, beim grössten aber nur noch 65% (Abb. 2).

Bei den diluvialen Murmeltieren beträgt die kleinste Basilarlänge 76 mm (Uttigen); sie macht 80% der grössten mit 94,3 mm (Studen) aus. Die Wachstumsvergleiche setzen für die diluvialen

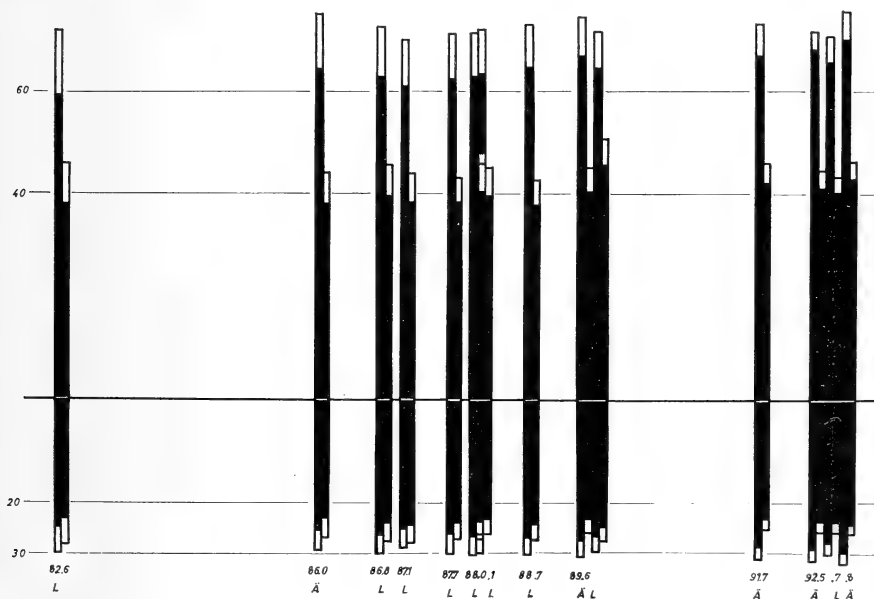


ABB. 3.

Diluviales Murmeltier. Die Schädel von Lüsslingen (Solothurn) und Ägerten (Bern). Erklärung bei Abb. 2.

Murmeltiere also nicht mit so frühen Jugendstadien ein, wie bei den rezenten.

Bei den Schädeln von Lüsslingen (Abb. 3) schwankt der Wert der Gesichtsschädellänge zwischen 71,2 und 73; dabei gehört der niedrigste Wert zum längsten Exemplar. Diese Reihe stellt einigermaßen isometrisches Wachstum dar. Für den Hirnschädel halten sich die Indizes zwischen 46,1 und 43,0 und dies so, dass ihre Anordnung gerade noch an ein schwach negativ allometrisches Wachstum erinnert.

Die Funde vom Rebhügel bei Ägerten ergeben für den Gesichtsschädel Werte zwischen 73,5 und 76,0 und für den Hirnschädel

solche zwischen 44,5 und 46,7. Hier bleibt der Wert der Hirnschädel mit zunehmender Schädelgrösse verhältnismässig gleich; beide Schädelteile wachsen ungefähr isometrisch.

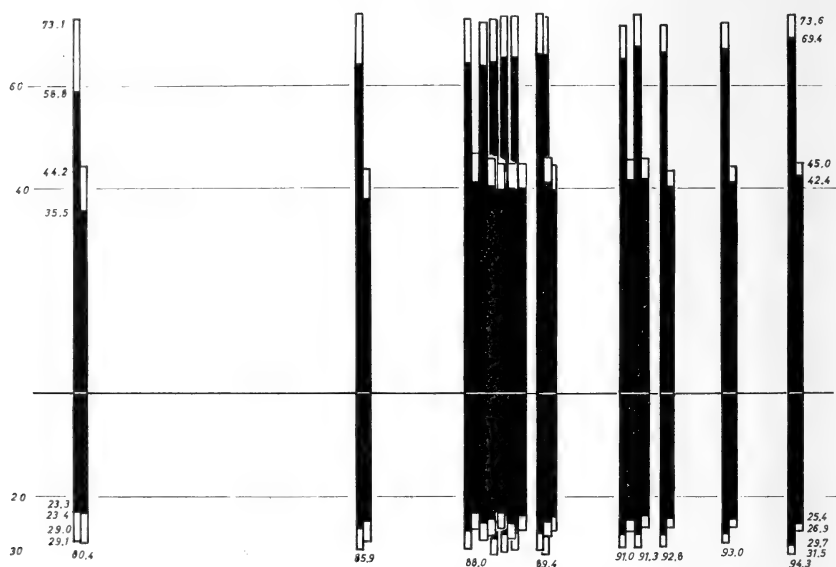


ABB. 4.

Diluviales Murmeltier.. Die Schädel von Studen (Bern).  
Erklärung bei Abb. 2.

Auch für die ansehnliche Reihe von Studen (Abb. 4) ergeben die Indizes 71,8 bis 74,6 beziehungsweise 42,8 bis 46,9 einen Hinweis auf isometrisches Wachstum. Ein ähnliches Bild vermittelt auch die Darstellung mit den 14 Schädeln von acht Fundorten (Abb. 5).

## EIN ERKLÄRUNGSVERSUCH

Das isometrische Wachsen des Hirnschädels ist nach dem Befund bei den heutigen Murmeltieren gar nicht zu erwarten, dafür soll hier eine Erklärung gegeben werden.

Im gleichen Mass, wie die Crista sagittalis bei grösseren Schädeln lang und scharf betont ausgebildet wird, entwickelt sich am Hinterhaupt auch die Schädelkante die Nackenlinie (Linea nuchalis). Grätig scharf und etwas nach aussen gerichtet baut sich hier eine

Knochenleiste so extrem auf, dass die Hinterfläche der Hirnkapsel, die beim jungen Tier schwach nach aussen gewölbt erscheint, in zunehmendem Mass konkav gestaltet wird. Auf diese Weise erhält der Hirnschädel beim diluvialen Murmeltier, ungleich viel

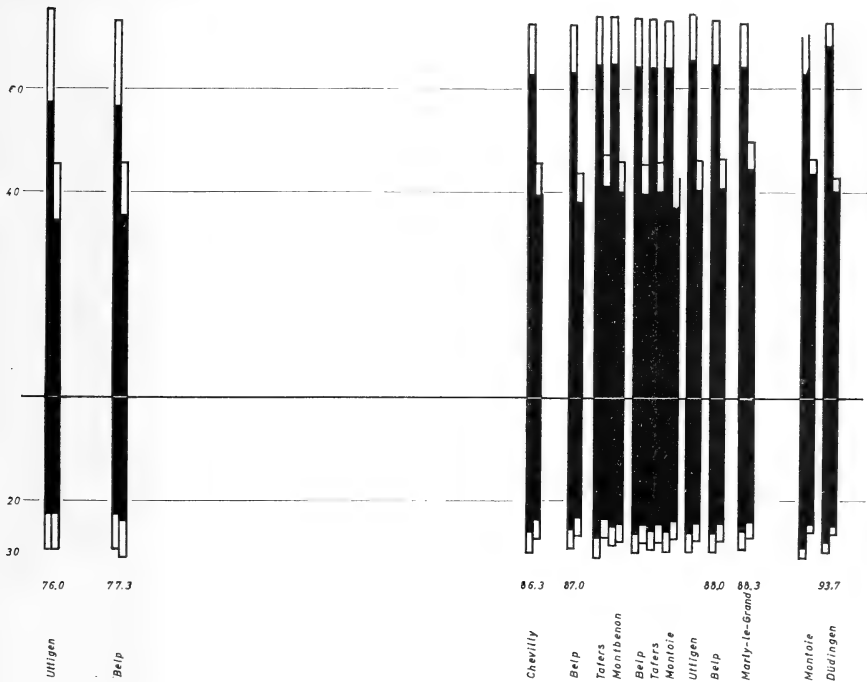


ABB. 5.

Diluviales Murmeltier. Die Schädel von acht Fundorten — Kanton Bern: Uttigen, Steinbach bei Belp; Kanton Freiburg: Düdingen, Töfers, Marly-le-Grand; Kanton Waadt: Montbenon und Montiole (Lausanne), Chevilly. Erklärung bei Abb. 2. Wenn am Schädel ein Mass nicht genommen werden konnte, dann fehlt der entsprechenden Säule der abschliessende Querstrich.

stärker als beim rezenten, einen Längenzuwachs in einem Ausmass, welches das Gehirnwachstum stark übertrifft. Diese auf der Hirnkapsel sich aufrichtenden Knochengräte vergrössern die Ansatzfläche für die Kau- und wohl auch die Nackenmuskulatur. Bei der Hirnschädellänge werden sie mitgemessen. Dagegen fallen sie bei einem anderen Hirnschädellmass nicht in Betracht, nämlich bei der Diagonale. Für diese Strecke ist denn auch ein schwach negativ

allometrisches Wachstum zu erkennen (Abb. 6). Ihre Werte bewegen sich bei der Schädelreihe von Studen zwischen 52,0 und 47,5, bei der von Burgdorf zwischen 54,0 und 50,1 und bei der von Biglen zwischen 53,3 und 51,7.

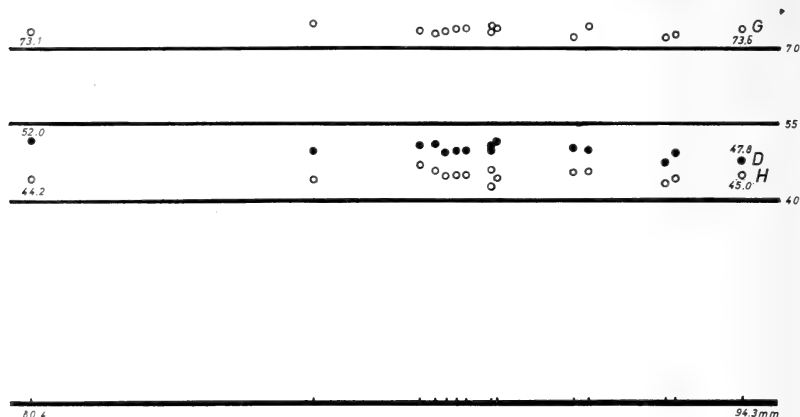


ABB. 6.

Diluviales Murmeltier. Die Schädel von Studen (Bern). Oben die Werte des Gesichtsschädels (G), unten die des Hirnschädels (H), in der Mitte die der Hirnschädeldiagonale (D).

## 2. DIE ZAHNLÜCKE (DAS DIASTEMA) UND DIE ZAHNREIHENLÄNGE

Das Diastema hat beim heutigen Murmeltier Werte von 28,0 bis 29,3; es entwickelt sich etwa isometrisch. Die Indizes der Zahnreihenlänge dagegen sinken von 37 auf 27, sie weisen auf deutlich negativ allometrisches Wachstum hin. Wenn die Lückenlänge beim jüngsten Schädel bloss 75% der Zahnreihe ausmacht, erreicht sie beim grössten 108%.

Wie schon erwähnt, fehlen bei den Schädeln der diluvialen Tiere so jugendliche Stadien; deshalb gibt es in dieser Reihe auch kein Beispiel, bei dem die Zahnreihenlänge das Diastema deutlich übertrifft. Die Kiefertile wachsen so, wie bei den rezenten Tieren, und in der Schädelreihe nehmen die Unterschiede zu Gunsten der Zahnlucke mit wachsender Grösse zu. Von dieser grossen Linie gibt es bei genauerer Prüfung je nach Fundort kleine, aber offenbar doch kennzeichnende Abweichungen. Bei den Lüsslinger Schädeln sprechen die Diastemawerte zwischen 29,6 und 30,5 klar für isome-

trisches Wachstum, bei Ägerten steigen sie stetig von 29,4 auf 32,0 und bei der grössten Reihe, der von Studen, bewegen sie sich zwischen 28,5 und 31,5 mit Schwankungen ansteigend.

### 3. DIE LÄNGE DER CRISTA SAGITTALIS, DES SCHEITELKAMMS

#### Abb. 7—9

Beim jungen Murmeltier bietet die glatte Wölbung des Hirnschädels dem Schläfenmuskel, einem ansehnlichen Teil der Kau-

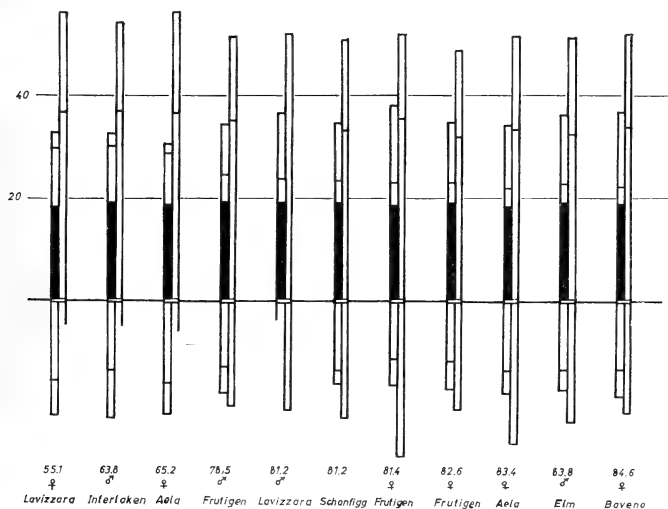


ABB. 7.

Rezentes Murmeltier. Anordnung nach steigender Basilarlänge. Von der Abszisse nach oben, links, scharz Schläfenenge in mm, darüber Querstrich der Index dazu, grösster Wert die Frontalbreite; rechts, kleiner Wert die Maxillarebreite, grösserer Wert die Hirnschädelbreite; nach unten, links kleiner Wert die Kieferbreite zwischen den 3. Molaren, grösserer Wert die zwischen den 1. Praemolaren; rechts der Wert für die Crista sagittalis.

muskulatur, genug Ansatzfläche. Wie oben gezeigt wurde, wächst beim sich vergrössernden Schädel der Kieferteil etwa isometrisch. Im gleichen Mass muss auch die Kaumuskelleistung wachsen. Während somit der Schläfenmuskel im Wachstum mit dem Gesamtschädel schritthalten wird, vergrössert sich seine Ansatzfläche, der Hirnschädel, schwach negativ allometrisch. Dieser Schädelteil wird den wachsenden Anforderungen des Kauapparates nur genügen

können mit der zusätzlichen Entwicklung der Crista, die zudem von der oben erwähnten Querleiste der Linea nuchalis ergänzt wird.

Die Entwicklung der Crista hängt ganz vom Wachstum des Schädels ab. Diese Knochenbildung muss deshalb bei der Altersbestimmung als Hinweis berücksichtigt werden. Bei *Myocastor coypus* hat K. D. JENTZSCH (Inaug.-Diss. Leipzig 1956, zit. nach HABERMEHL 1961) die Entwicklung der Nackenlinie und des Scheitellkamms eingehend gegliedert und zur Bestimmung des Alters beschrieben.

#### 4. DER DURCHMESSER DER AUGENHÖHLE

Es ist zu erwarten, dass das Auge — und daher auch die Augenhöhle — beim jungen Murmeltier schon recht weit entwickelt ist. Diese Vermutung wird von den wenigen durchgeführten Messungen bestätigt. Für die Basilarlänge von 63,8 bis 82,6 mm sinkt beim rezenten Murmeltier der Index für die Orbita-Diagonale von 36,8 auf 34,5. Soweit festgestellt werden konnte, bewegt sich bei den vorkommenden Basilarlängen der Index für diese Diagonale beim diluvialen Tier im engen Bereich von etwa 33 bis 34.

#### 5. DIE HIRNSCHÄDELBREITE. Abb. 7—9

Die Werte für dieses Mass zeigen bei den Schädeln rezenter Tiere eine schwach abnehmende Tendenz, ein Verhalten, das sich mit dem leicht negativ allometrischen Wachsen der Hirnschädel-Länge vereinen lässt. Bei den Schädeln der diluvialen Tiere ist keine deutliche Wachstumstendenz zu erkennen. Es ist möglich, dass auch hier die gratige Entwicklung der Nackenlinie ein schwach negativ allometrisches Wachsen der Schädelbreite verschleiert.

#### 6. DIE BREITE DES OBERKIEFERBEINS. Abb. 7—9

##### a) Die Breite bei den Vorsprüngen mit dem Foramen infraorbitale.

Bei den rezenten Tieren nimmt diese Breite mit wachsendem Schädel eher etwas ab. Die Reihe von Lüsslingen zeigt ungefähr isometrisches Wachstum an. Dieser auffallende Vorsprung des Oberkieferknochens ist für einen Teil, nämlich die oberflächliche Portion des Masseters Ansatzfläche (STARCK und WEHRLI 1935);



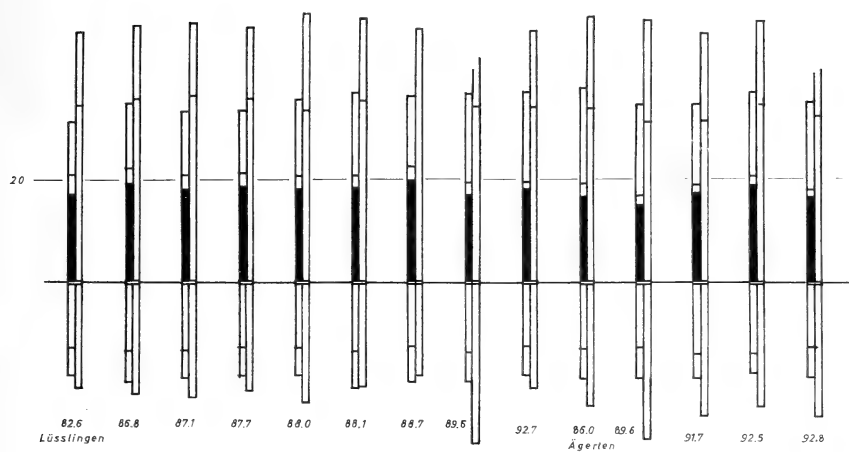


ABB. 8.

Diluviales Murmeltier. Die Schädel von Lüsslingen und Aegerten.  
Erklärungen bei Abb. 7.

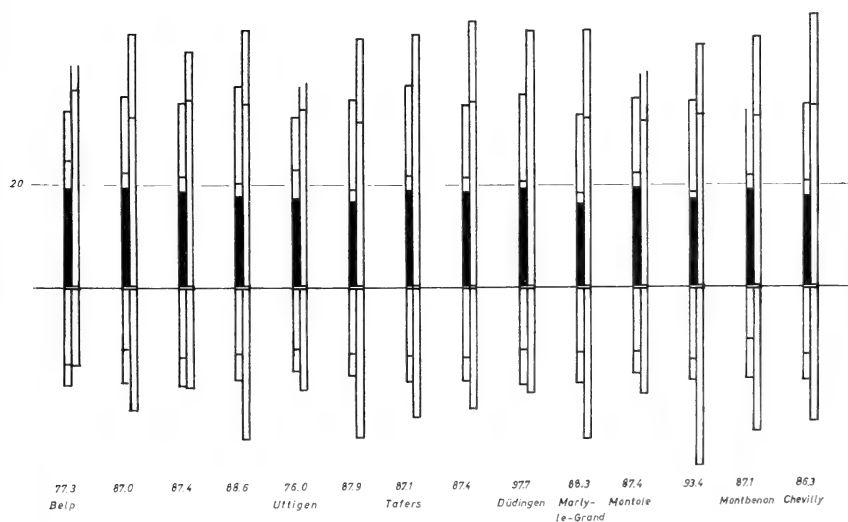


ABB. 9.

Diluviales Murmeltier. Die Schädel der Abb. 5. Erklärung bei Abb. 7.

deshalb ist es überraschend, dass das Wachstum hier bestenfalls isometrisch verläuft.

b) Für die Kieferbreite am Vorder- wie auch am Hinterende der Backenzahnreihe nehmen die Werte mit zunehmender Schädelgrösse ab. Dieses Verhalten ist ja auch für die Länge dieser Zahnreihe festzustellen. Beim jugendlichen Schädel sind die Zähne schon so ansehnlich entwickelt, dass der sie tragende Kieferteil einigermaßen übergross erscheinen muss. Durch das darauffolgende negativ allometrische Wachstum gleichen sich die Grössenverhältnisse mehr und mehr aus. Beim jungen Schädel nähern sich die beiden Zahnreihen caudalwärts mit sehr spitzem Winkel (die bei  $M_3$  gemessene Kieferbreite ist etwas kleiner als die bei  $P_1$ ). Je nach dem Fundort bleibt bei grösseren Schädeln dieser Winkel gleich, so bei der Reihe von Lüsslingen, oder er verändert sich um etwas. Zum Beispiel bei der Reihe von Belp nimmt er ein wenig zu und ist aber bei der grössten Basilarlänge wieder kleiner.

## 7. DIE STIRNBEINBREITE UND DIE SCHLÄFENENGE. Abb. 7—9

a) Die Breite des Stirnbeins über der Augenhöhle wächst bei den rezenten sowohl wie bei den diluvialen Tieren im gesamten recht regellos. Für einzelne Fundorte sind immerhin bestimmte Tendenzen zu bemerken, so etwa für die Tiere von Lüsslingen zu positiv, für die von Ägerten dagegen zu negativ allometrischem Wachstum. Ältere Lüsslinger-Tiere müssten deshalb in der Augen-Stirnpartie eher schmaler, Ägerten-Tiere dagegen breiter ausgesehen haben. Für dieses von der Herkunft abhängige verschiedene Wachsen der Stirnbreite gibt es noch weitere Beispiele; dann aber auch andere, die keine Regel erkennen lassen.

### b) *Die Schläfenenge.*

Die starke Einschnürung des Murmeltierschädels, die Schläfenenge liegt im Grenzbereich zwischen Stirnbein und Scheitelbein. Sie entwickelt sich in der Reihe von jungen zu alten Tieren immer ausgeprägter. Für die Murmeltiere der Gegenwart sinkt ihr Wert im Bereich der Basilarlängen 55,4 bis 84,6 mm von 32,8 auf 21,9. Wenn diese Incisur zuerst noch einen Drittel der Basilarlänge ausmacht, so sinkt sie später auf etwa einen Fünftel dieser Bezugs-

grösse ab. Zwei weibliche Schädel vom Äla-Gebiet (Graubünden) des Basler Museums lassen annehmen, dass die Einengung nicht nur relativ, sondern auch absolut zunimmt. Zur Basilarlänge 65,2 mm gehört die Schläfenenge 18,7 mm oder der Index 28,7 und zu 83,4 mm Länge eine solche von 18,3 mm oder der Index 21,9. Beim Ausprägen der grossen Incisur wird offenbar Knochensubstanz auch abgebaut.

Bei den diluvialen Funden fehlen, wie bereits erwähnt, so jugendliche Schädel. Es darf hier deshalb nicht ein so weiter Schwankungsbereich der Schläfenengewerte erwartet werden. Für die Lüsslinger Reihe bewegen sie sich zwischen 22,4 und 19,3 und zwar, bei vorläufiger Beurteilung, ohne spürbare Ordnung. Die Reihe von Ägerten hat ihre Indizes zwischen 20,7 und 16,9. Eine solch scharfe Einschnürung der Schläfenpartie kommt beim heutigen Murmeltier scheinbar nicht mehr zur Ausbildung.

### EINIGE ERWÄGUNGEN

B. KLATT (1913) hat darauf hingewiesen, dass neben den eigenen Wachstumstendenzen der Knochenkapsel von innen her das Gehirn und von aussen die wachsende Muskulatur, hier der Schläfenmuskel, das Schädelbild gestalten helfen. Bei der beim Murmeltier vorkommenden kräftigen Verengung der Schläfe muss an eine überaus extrem formende Wirkung des Schläfenmuskels gedacht werden. Und eine sehr starke Entwicklung dieses Muskels anzunehmen wurde ja auch nahegelegt, um die oben beschriebenen kräftigen Knochenbildungen des Scheitelkamms und der Nackenlinie verstehen zu können. Beim rezenten Murmeltier sind, wie die Schläfenenge, übrigens auch diese Knochenleisten merklich schwächer ausgebildet.

Die Schläfenenge regt noch zu einer weiteren Überlegung an. Die Werte eines bestimmten Fundorts zeigen eigentümliche Unterschiede, wobei immer mehr oder weniger deutlich eine Lücke auffällt. In vielen Fällen wird dadurch eine Aufteilung in zwei Gruppen nahegelegt. Bei diesem Vorgehen leistet der Index der Schläfenenge, bezogen auf die Hirnschädeldiagonale gute Dienste. Weil diese Bezugsstrecke die Beschaffenheit des Hirnschädels unverhüllt wiedergibt, wird mit diesem Index die Unterscheidungs-

möglichkeit gesteigert. Diese Werte werden im Folgenden in Klammern angeführt.

Von den vier Schädeln von Steinibach bei Belp mag der eine noch jugendliche Merkmale zeigen: Basilarlänge 77,3 mm; Indizes 24,7 (48,9); die andern haben Basilarlängen zwischen 87 und 88 mm; ihre Werte lassen die beiden Gruppen zu: 22,3 (44,5), 21,5 (42,5) gegenüber 20,2 (38,1). Für Ägerten heisst die entsprechende Gruppierung, bei Basilarlängen von 86 bis 92,8 mm 20,7 (41,3) gegenüber 19,4 (38,2), 16,9 (33,2), 19,1 (37,5) und 18,1 (35,2). Die vier Schädel von Biglen mit Basilarlängen von 78,6—88,8 mm lassen sich gruppieren: 23,0 (43,8), 23,0 (43,7) und 22,2 (42,9) gegenüber 19,9 (37,4). Bei den hier betrachteten Schädeln bleibt zwischen den beiden Gruppen für den Index in Klammern eine Lücke zwischen 38,2 und 41,3.

Im Berner Museum befinden sich zwei rezente Murmeltierschädel von Schwandi (Kandertal). Der weibliche Schädel mit der Basilarlänge 82,6 mm, der Schläfenenge 19,0 mm und den Indizes 23,0 (44,8) ist dem männlichen gegenüberzustellen mit der Basilarlänge 78,5 mm, Schläfenenge 19,2 mm und 24,5 (47,9). Diese Unterschiede veranlassten mich, an eine einleuchtende Erklärung der oben durchgeführten Gruppierungen zu denken. Schädel mit den höheren Schläfenengenindizes, mit weniger ausgeprägter Enge, stammen von männlichen, die mit den niedrigeren Werten mit kräftiger Einengung von weiblichen Tieren. Weitere Untersuchungen ergaben vorerst ähnliche solche für eine Gruppierung nach Geschlechtern sprechende Unterschiede, dann aber auch Fälle, die in diese Einordnung nicht zu passen scheinen:

— Die jugendlichen Schädel haben, wie erwähnt, höhere Werte, wohl für beide Geschlechter. Auch das Männchen von Schwandi ist ja etwas jugendlicher als das Weibchen.

— Unter den wenigen rezenten Schädeln mit bekanntem Geschlecht gibt es so starke Verschiebungen der Indizes, dass sie in den Bereich der andern Gruppe übergreifen.

So ist vorläufig nicht sicher zu entscheiden, ob die in der Tat sich verschieden kräftig ausbildende Schläfenenge wirklich vom Geschlecht abhängig sei. Erst eine genügend grosse Sammlung rezenter Schädel, bei denen Geschlecht und Herkunft bekannt sind und die verschiedene Altersstufen enthält, wird ein besseres Urteilen erlauben. Es ist deshalb wichtig, die Herkunft zu kennen, weil man

vermuten darf, dass sich das Alpenmurmeltier der Gegenwart auch in kleine lokale Stämme gliedern lässt. Wenn diese Unterschiede sich äusserlich nicht zu erkennen geben, so mögen sie doch osteologisch wahrzunehmen sein. Es ist denkbar, dass bei einer darauf fussenden Gruppierung die eben erwähnten störenden Überschneidungen sich vermindern oder sogar ganz lösen werden.

### ZUSAMMENFASSUNG

Im Bereich der diluvialen Rhone- und Aaregletscher werden im schweizerischen Mittelland immer wieder Knochen des Murmeltiers — *Marmota marmota* (L.) — gefunden. Ihre Masse werden mit denen einer vorhandenen Auswahl des etwas kleineren rezenten Murmeltiers verglichen. Hierbei verhalten sich in der Reihe von kleinen zu grossen Schädeln bestimmte Masse (z. B. Gesichtschädellänge, Diastema, Zahnreihenlänge) ganz entsprechend, während andere (z. B. Hirnschädellänge) voneinander abweichen.

Ähnliche Abweichungen gibt es aber auch je nach Fundort beim diluvialen Murmeltier. Dadurch wird die Annahme nahegelegt, dass dieses in kleine Lokalrassen aufgegliedert war.

Bei den Schädeln eines bestimmten Fundortes ist die Schläfenge jeweils in deutlich unterschiedlichem Grad entwickelt, so dass oft zwei Gruppen erkannt werden können. Es ist denkbar, dass sich hier das Geschlecht auswirkt. Diese Annahme wird jedoch durch die vorhandenen rezenten Schädel mit bekanntem Geschlecht nicht klar bestätigt. Das rezente Murmeltier muss auch in dieser Beziehung osteologisch besser erforscht werden; dazu fehlt vorläufig das Material.

### SUMMARY

In the region of the *diluvial glaciers of Rhone and Aare in the Swiss midlands*, bones of the marmot — *Marmota marmota* (L.) — are continually being found. Their measurements have been compared with those of specimens of the somewhat smaller recent marmot. It has been discovered that certain measurements (e. g. the length of the facial skull, diastema, the length of the row of teeth) are in corresponding proportion, whereas others (e. g. the length of the cranium (= brain-pan) differ from each other.

But there are similar differences in the diluvial marmot, depending upon its habitat. This fact suggests that the species of diluvial marmot was broken up into small local races.

The incisura temporalis of the skulls found in certain places is often developed to two distinctly different degrees. It is possible that sex is responsible for this. Yet this supposition is not clearly confirmed by the existing recent skulls whose sex is known. In this respect, too, the recent marmot must be better explored osteologically; for such investigations, however, we still lack the material.

## RÉSUMÉ

Dans la région des glaciers diluviaux du Rhône et de l'Aar, l'on trouve continuellement des ossements de marmottes-*Marmota marmota* (L.). Leurs dimensions ont été comparées à celles de spécimens provenant de la marmotte récente, légèrement plus petite. On a constaté que certaines dimensions (p. ex. la longueur du crâne facial, celle de la rangée des dents, le diastème) étaient proportionnelles tandis que d'autres (p. ex. la longueur de la boîte crânienne) sont de nature différente.

Toutefois, des différences semblables se trouvent parmi les marmottes diluviales, suivant leur habitat. Ceci suggère que la marmotte diluviale formait de petites races locales.

L'incision temporale de crânes provenant d'un emplacement déterminé présente deux degrés distincts de développement. Il est possible que ceci soit en rapport avec le sexe. Or, les crânes récents, dont le sexe est connu, ne confirment pas nettement cette hypothèse. L'ostéologie de la marmotte récente devrait donc être également approfondie. Malheureusement le matériel requis pour de telles investigations fait encore défaut.

## DIE ERWÄHNT E LITERATUR

- DUBOIS, A. et STEHLIN, H. G. 1932/33. *La grotte de Cotencher — Station moustérienne*. Mém. Soc. Pal. suisse 52/53. 292 pp.
- HABERMEHL, K.-H. 1961. *Die Altersbestimmung bei Haustieren, Pelztieren und beim jagdbaren Wild*. Berlin und Hamburg, 223 S.

- HENSEL, R. 1881. *Craniologische Studien*. Nova Acta Leop.-Carol. Deutsche Akad. d. Naturforscher. 42.
- KLATT, B. 1913. *Über den Einfluss der Gesamtgrösse auf das Schädelbild usw.* Arch. f. Entw. mech. d. Organismen 36: 387-471.
- MICHEL, F. 1962. *Knochenfunde des eiszeitlichen Murmeltieres von Uttigen (Kt. Bern)*. Mitt. Naturwiss. Ges. Thun 6: 37-53.
- STARCK, D. und WEHRLI, H. 1935. *Die Kaumuskulatur von Marmota marmota L.* Z'schr. f. Säugetierk. 10: 33-38.
- WEHRLI, H. 1935a. *Zur Osteologie der Gattung Marmota Blumenb. usw.* ebenda 10: 1-32.
- 1935b. *Die diluvialen Murmeltiere Deutschlands*. Palaeont. Z'schr. 17: 204-243.
-





# Eine eigenartige Entwicklungsanomalie der Honigbiene

(*Apis mellifica*)

von

**W. FYG**

Bienenabteilung der Eidg. milchwirtschaftlichen Versuchsanstalt  
Liebefeld, Bern

Mit 5 Textabbildungen.

Im Juli 1957 erhielt unsere Anstalt von einem Imker in Muttenz (Kt. Baselland) ein Wabenstück aus einem krankheitsverdächtigen Bienenvolk zur diagnostischen Untersuchung, in welchem neben gesunder Brut und schlüpfreifen Bienen in zerstreut liegenden, aber normal gedeckelten Zellen zahlreiche, sonderbar missbildete Arbeiterinnenpuppen vorhanden waren. Diese mehr oder weniger stark ausgefärbten Puppen (Abb. 1, B und C) besaßen fast alle einen merkwürdig aufgetriebenen, abnorm grossen Kopf und bei vielen von ihnen war zudem das Abdomen so auffallend verkürzt, dass das dritte Beinpaar weit über das Körperende hinausragte. Da hier möglicherweise eine bisher nicht bekannte, erblich bedingte Anomalie vorlag, ersuchten wir den Imker, uns die lebende Königin dieses Bienenvolkes für Studienzwecke und Zuchtversuche zu überlassen. Leider konnte er das nicht mehr tun, weil das Volk seine Königin inzwischen verloren und der Bienenzüchter sämtliche Brutwaben vorsorglich vernichtet hatte. Die weiteren Untersuchungen mussten sich deshalb auf das vorhandene Material beschränken. Im eingesandten Wabenstück fanden sich immerhin 18 (= 25%) normale Arbeiterinnenpuppen (Abb. 1, A), 8 (= 11%)

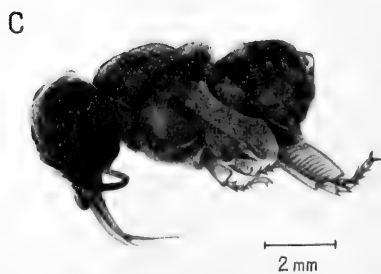
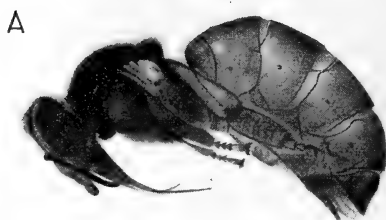


ABB. 1.  
Eine normale (A) und zwei abnorme Muttенzer-Bienenpuppen (B, C)  
[phot. Hättenschwiler, Liebefeld]

abnorme Puppen vom Typ B und 46 (= 64%) vom Typ C. Bedauerlicherweise eigneten sich aber nur wenige der missbildeten Exemplare für die Anfertigung von histologischen Schnittpräparaten, da die meisten dafür schon allzusehr ausgetrocknet und vielfach auch zu hart waren. Es liessen sich lediglich von 14 Puppen vollständige und befriedigende Schnittserien herstellen. Bei der Auswertung dieser Präparate konnte ich die überraschende Feststellung machen, dass die eigentümliche, bei der Honigbiene meines Wissens bislang noch nie beobachtete Missbildung des Kopfes und die gleichzeitig recht häufige Deformierung des Abdomens offensichtlich mit einer ganz regelwidrigen Entwicklung und Verschiebung des Darmkanals in enger Beziehung stehen. Um das Wesentliche dieser Fehlbildung verständlich darlegen zu können, dürften zunächst einige kurze Ausführungen über die normale Entwicklung des Bienendarmes während der Postembryogenese angezeigt sein.

Der Darmtrakt der Honigbiene macht im Verlaufe der postembryonalen Entwicklung tiefgreifende morphologische und histologische Umwandlungen durch, die von OERTEL (1930), KUSMENKO (1940), LOTMAR (1945) und DOBROVSKY (1951) ausführlich beschrieben worden sind. Im Zusammenhang mit der vorliegenden Muttentzer-Anomalie interessieren uns hier nur die topographisch-anatomischen Verhältnisse bei den verschiedenen Entwicklungsstadien. Der Larvendarm (Abb. 2, A) ist sehr einfach gebaut. Der ektodermale Vorderdarm (Stomodaeum, Vd) führt von der Mundöffnung (m) als kurzes, noch wenig differenziertes Rohr in den mächtig entwickelten und weitlumigen entodermalen Mitteldarm (Mesenteron, Md), welcher sich vom Prothorax bis in das 11. Körpersegment ausdehnt und hinten blindgeschlossen ist. Der ebenfalls noch kurze, ektodermale Hinter- oder Enddarm (Proctodaeum, Ed), in dessen kelchartig erweitertes Vorderende die vier larvalen Harngefässe (Hg) einmünden, besitzt ein enges Lumen und verläuft in einer S-förmigen Schleife zum After (a). Erst gegen das Ende der Larvenzeit öffnet sich der Verschluss zwischen dem Mittel- und Enddarm vorübergehend, damit die Bienenlarve vor dem Spinnen des Kokons ihren Darm entleeren kann. Bei der verpuppungsreifen Larve, d. h. im sogenannten Streckmadenstadium (Abb. 2, B), wird der Vorderdarm länger und reicht bis in das 4. Körpersegment. Histologisch lassen sich bereits der Schlund (S), die Speiseröhre (Sp) und die zukünftige Honigblase (H) voneinander abgrenzen. Die

auffallendste Veränderung zeigt der Mitteldarm (Md). Unmittelbar nach der Defäkation und der Abstossung des larvalen Epithels fällt er zusammen und bildet nun ein englumiges Rohr, an welches der auch wesentlich länger gewordene Enddarm (Ed) anschliesst.

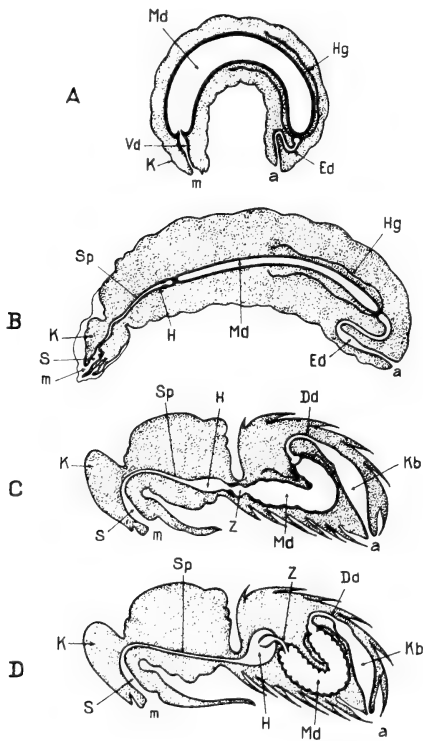


ABB. 2.

Die normale, postembryonale Entwicklung des Darmkanals der Honigbiene (schematisch)

A: Larve (Rundmade); B: Streckmade; C: 2½ Tage alte Arbeiterinnenpuppe; D: 4 Tage alte Arbeiterinnenpuppe.

a: Anus; Ed: Proctodaeum; H: Ingluvies; Hg: Malpighi'sche Gefässe; K: Kopf; Kb: Rectum; m: Mund; Md: Ventriculus; S: Pharynx; Sp: Oesophagus; Z: Proventriculus.

Kurz nach der Verpuppung beginnt der Mitteldarm, sich wieder zu erweitern; sein konisches Vorderende liegt zu dieser Zeit noch im Brustabschnitt und erreicht die Grenze zwischen Meso- und Metathorax; analwärts endigt er im 8. Körpersegment. Vom zweiten

Puppentag hinweg zieht sich der Mitteldarm normalerweise mit einer leichten Biegung in das Abdomen zurück. Bei einer 2 1/2 Tage alten Arbeiterinnenpuppe (Abb. 2, C) findet man deshalb die Vereinigungsstelle zwischen dem stark verlängerten, den Thorax fast geradlinig durchziehenden Vorderdarm und dem Mitteldarm in der Regel im oder dicht hinter dem Petiolus<sup>1</sup>. Dementsprechend erfahren auch die Honigblase (H) und der sich nun differenzierende Zwischendarm oder Proventriculus (Z) in der Brust eine Verschiebung nach hinten. Der Enddarm ist in diesem Stadium in drei Abschnitte gegliedert, nämlich in den trichterförmigen, an den Mitteldarm anschliessenden Pylorus, den Dünndarm (Dd) und in die Kotblase (Rectum, Kb). An der Grenze zwischen Mesenteron und Pylorus münden die imaginalen Harngefässe als ziemlich lange, dünne Schläuche in den Darm ein. Die Dislokation der Honigblase und des Zwischendarmes nach hinten findet erst bei der 3 1/2 bis 4 Tage alten Puppe (Abb. 2, D) ihren Abschluss; sie liegen dann beide im vordersten Teil des Abdomens. Der Mitteldarm (Md) und der Dünndarm (Dd) bilden infolge ihrer zunehmenden Länge im Hinterleib schliesslich einfache Schleifen und zwar der erstere eine solche im Uhrzeiger-, der letztere im Gegenuhrzeigersinn<sup>2</sup>. Damit sind die charakteristischen Lageänderungen der verschiedenen Darmabschnitte und die Gestaltung des Darmtraktes im wesentlichen abgeschlossen.

Die abnormen Muttenser-Bienenpuppen (Abb. 1, B und C) zeigen nun hinsichtlich der Ausbildung des Darmes höchst eigenartige, von der Norm stark abweichende Verhältnisse. Bei ihnen ist die ordentliche Verlagerung der Honigblase, des Proventriculus und des Mitteldarmes in den Hinterleib entweder ganz unterblieben oder hat gerade in entgegengesetzter Richtung, also kopfwärts stattgefunden. Das gilt sowohl für den Puppentyp B als auch für den Typus C, welche beide nach meinen Untersuchungen trotz der unterschiedlichen Form des Abdomens lediglich zwei verschiedene Ausbildungsgrade der nämlichen Abnormität darstellen.

<sup>1</sup> Unter „Petiolus“ ist hier die Einschnürung zwischen Brustabschnitt und Hinterleib zu verstehen; sie entspricht der Grenze zwischen dem 1. und 2. Abdominalsegment (SNODGRASS, 1956).

<sup>2</sup> Bei der Bienenkönigin ist in einigen Fällen auch ein inverser Darmverlauf beobachtet worden (GONTARSKI, 1937; FYG, 1948, 1963). Ob ein Situs inversus des Darmes bei den Arbeitsbienen ebenfalls vorkommt, ist nicht bekannt.

Die Abb. 3 veranschaulicht einen schematisierten, aus einer vollständigen Schnittserie rekonstruierten Längsschnitt durch eine junge, ungefähr 2 bis 3 Tage alte Muttenser-Arbeiterinnenpuppe vom Typus B mit einem äusserlich normalen Hinterleib. Das Ober- und Unterschlundganglion (Cgl, Sbg1) befinden sich in der etwas aufgetriebenen Kopfkapsel am rechten Ort und sind nicht missbildet. Das gleiche gilt für den Pharynx (Ph) und den die Schlund-

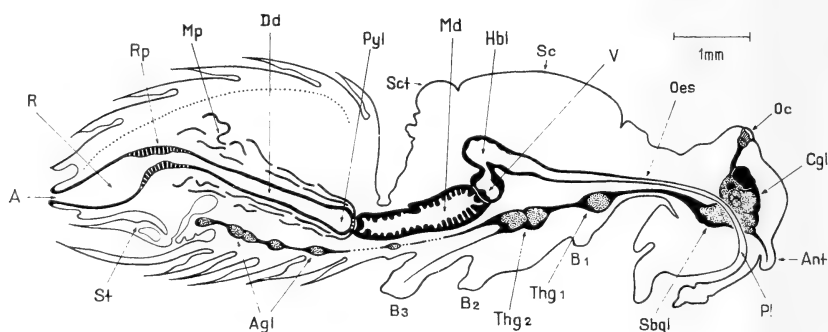


ABB. 3.

Längsschnitt durch eine Muttenser-Arbeiterinnenpuppe  
mit äusserlich normalem Abdomen  
(Rekonstruktion, schematisiert)

A: Anus; Agl: Abdominalganglien; Ant: Antenne; B<sub>1</sub> B<sub>2</sub> B<sub>3</sub>: Ansatz des ersten, zweiten und dritten Beines; Cgl: Cerebralganglion; Dd: Dünndarm; Hbl: Honigblase (Ingluvies); Md: Mitteldarm (Ventriculus); Mp: Malpighi'sche Gefässe; Oc: Ocellus; Oes: Oesophagus; Ph: Pharynx; Pyl: Pylorus; R: Rectum; Rp: Rectalpapillen; Sbg1: Suboesophagealganglion; Sc: Scutum; Sct: Scutellum; St: Stachel; Thg<sub>1</sub> Thg<sub>2</sub>: Thoracalganglien; V: Proventriculus.

kommissur durchziehenden Oesophagus (Oes). Die Honigblase (Hbl) und der anschliessende Proventriculus (V) zeigen nun aber bereits eine deutliche Verschiebung, indem sie im Thorax nicht in der geradlinigen Fortsetzung der Speiseröhre verlaufen, sondern in der Mittelbrust über dem zweiten Thoracalganglion (Thg<sub>2</sub>) und innerhalb der normal entwickelten Brustmuskulatur eine starke Biegung aufweisen. Dieser abnorme Verlauf dürfte darauf zurückzuführen sein, dass sich der auffallend kurze Mitteldarm (Md) bei diesen Puppen nicht in der ordentlichen Weise in das Abdomen zurückgezogen hat; er ist vielmehr regelwidrig im hintern Teil des Brustabschnittes, d. h. im Metathorax und Propodeum verblieben

und hinderte so offenbar die vor ihm liegenden Abschnitte des Vorderdarmes an der natürlichen Streckung und Lageänderung. Den Pylorus (Pyl) mit den einmündenden imaginalen Harngefäßen (Mp) finden wir ebenfalls an einem absonderlichen Ort, nämlich

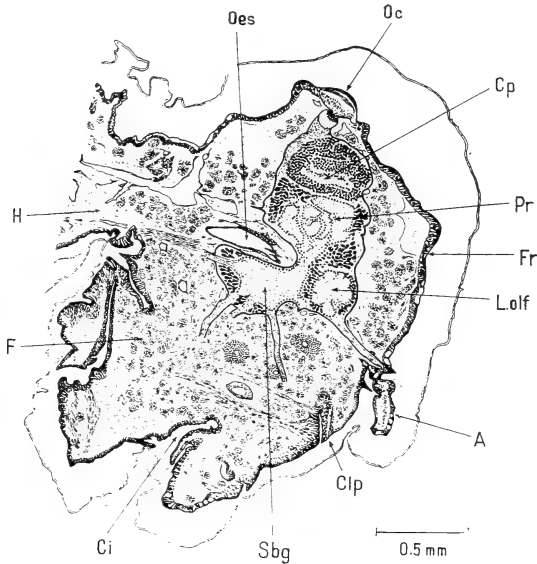


ABB. 4.

Sagittalschnitt durch die Kopfkapsel einer normalen  
Muttenser-Arbeiterinnenpuppe

A: Antenne; Ci: Cibarium (Praeoralhöhle); Clp: Clypeus; Cp: Corpus pedunculatum (Pilzkörper); F: Fettkörperzellen; Fr: Frons; H: Halsregion; Lolf: Lobus olfactorius; Oc: Ocellus; Oes: Oesophagus (Anschnitt); Pr: Protocerebrum; Sbg: Suboesophagealganglion.

dicht hinter dem Petiolus ganz vorne im Abdomen statt im 3. Hinterleibssegment<sup>1</sup>. Das Abdomen wird dementsprechend nur vom völlig gestreckten Dünndarm (Dd) und der Kotblase (R) durchzogen.

Die Muttenser-Bienenpuppen vom Typus C mit dem auffallend verkürzten Hinterleib zeichnen sich durch einen noch viel eigenartigeren, ja geradezu grotesken Darmverlauf aus. Bei ihnen ist

<sup>1</sup> Da sich bei den Hymenopteren das erste Abdominalsegment als Propodeum mit dem Thorax vereinigt, haben wir es beim dritten, sichtbaren Hinterleibssegment in Wirklichkeit mit dem vierten abdominalen Segment zu tun.

nämlich der Darmtrakt im Körper vielfach so weit nach vorn verschoben, dass er zum grössten Teil in der stark aufgetriebenen Kopfkapsel und im Thorax liegt! Die Abb. 4 zeigt einen Sagittalschnitt durch den Kopf einer normalen, die Abb. 5 einen solchen durch die Kopfkapsel einer hochgradig abnormen Muttenerpuppe.

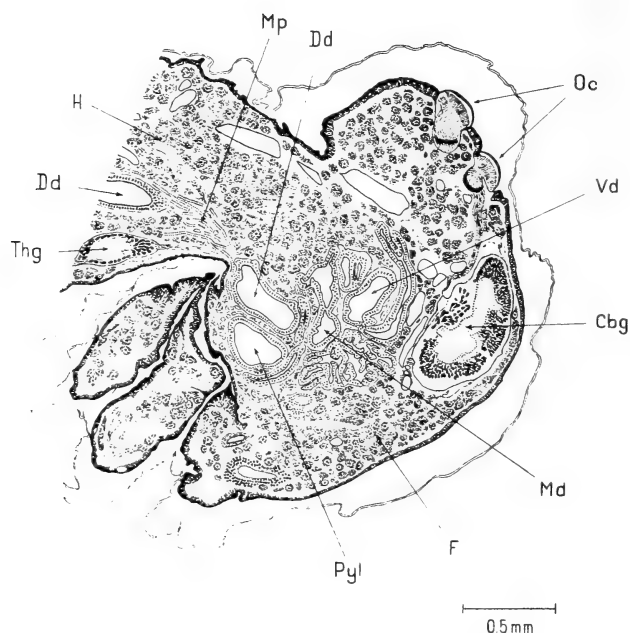


ABB. 5.

Sagittalschnitt durch die Kopfkapsel einer abnormen  
Muttener-Arbeiterinnenpuppe

Cbg: Cerebralganglion; Dd: Dünndarm; F: Fettkörperzellen; H: Halsregion;  
Md: Mitteldarm (Ventriculus); Mp: Malpighi'sche Gefässe; Oc: Ocellen;  
Pyl: Pylorus; Thg: erstes Abdominalganglion; Vd: Vorderdarm (Oesophagus und Proventriculus).

Ein Vergleich der beiden Schnittbilder lässt sofort erkennen, dass bei der missbildeten Puppe das Gehirn (Cbg) an die Stirnwand verlagert und sichtlich zusammengedrückt ist. Hinter ihm finden wir, eingebettet in Fettkörperzellen (F), einen scheinbar kaum zu entwirrenden Knäuel von Darmschlingen, welche im dargestellten Schnitt teils längs, teils quer getroffen sind. Da sich die einzelnen Darmabschnitte histologisch deutlich voneinander unterscheiden,



ist es ohne weiteres möglich, in den Schnittpräparaten den Vorderdarm (Vd), den Mitteldarm (Md) und den Dünndarm (Dd) zu identifizieren; sie zeigen übrigens trotz der Agglomeration einen normalen Feinbau. Die Verlagerung des Darmes nach vorn hat bei diesen Muttenserpuppen einen solchen Grad erreicht, dass sich auch der Pylorus (Pyl) mit den einmündenden Malpighi'schen Gefässen im hintern, ventralen Teil der Kopfkapsel befindet. Von hier ziehen der Dünndarm (Dd) und die schlauchförmigen imaginalen Harngefässe (Mp) durch den Hals (H) und die Brust bis in den Metathorax. Bereits im Propodeum beginnt sodann der Endabschnitt des Hinterdarmes, die Kotblase, welche als sichtlich verengtes Rohr durch den Petiolus führt und von da bis zum After fast geradlinig verläuft. Es ist eigentlich gar nicht erstaunlich, dass bei einer so extremen Verschiebung des Darmtraktes nicht nur die Kopfkapsel aufgetrieben, sondern auch das Abdomen mehr oder weniger stark deformiert wird. Man muss nämlich bedenken, dass das Rectum im letzten Segment am Analring befestigt ist. Unter diesen Umständen kann der Enddarm dem Zug in oraler Richtung wohl nur folgen, wenn er die terminalen Abdominalsegmente hinter sich nachzieht. Auf diese Weise dürfte sehr wahrscheinlich die sonderbare Verkürzung und Invagination des Hinterleibes, wie sie viele Muttenser-Bienenpuppen zeigen, zustande gekommen sein. In diesem Zusammenhang ist erwähnenswert, dass mit dem Enddarm nachweislich auch noch andere Abdominalorgane nach vorn verschoben worden sind. Das trifft sowohl für die fünf Abdominalganglien als auch für die Ovaranlagen zu, welche bei einigen untersuchten Puppen mit stark eingezogenem Hinterleib unter dem Vorderrande des Rectums im Propodeum des Brustabschnittes liegen.

Zwei Muttenserpuppen erwiesen sich bei der Untersuchung gewissermassen als Verbindungsglieder zwischen den beiden soeben beschriebenen Typen B und C. Bei ihnen reicht nur ein kleiner Teil des Mitteldarmes in die Kopfkapsel hinein.

Es stellt sich natürlich sogleich die Frage nach der Ursache dieser höchst seltsamen Entwicklungsanomalie. Leider kann ich darüber nichts aussagen. In der Fachliteratur wird die normale Verschiebung der Honigblase und des Proventriculus nach hinten und die Schleifenbildung des Mittel- und Dünndarmes im Abdomen mit dem zunehmenden Längenwachstum des Darmtraktes während der postembryonalen Entwicklung erklärt. Sicherlich müssen dabei

aber noch andere Faktoren eine wesentliche Rolle spielen. Bei der Honigbiene hat sich meines Wissens bis jetzt noch niemand mit diesem entwicklungsphysiologisch interessanten Problem näher beschäftigt. Vielleicht gibt die vorliegende kurze Beschreibung der Muttenser-Anomalie die Anregung dazu.

## RÉSUMÉ

Une anomalie de développement de l'abeille est décrite, qui fit son apparition en juillet 1957 dans le couvain d'une colonie suspecte d'un rucher de Muttens (Bâle-Campagne). Un grand nombre de pupes affectaient une tête étrangement ballonnée, anormalement grande et parfois aussi un abdomen raccourci de façon frappante. Les examens anatomiques et histologiques révélèrent que la malformation de la tête et la difformité de l'abdomen sont en corrélation très étroite avec un développement absolument anormal du canal intestinal. L'origine du trouble est inconnue.

## SUMMARY

A developmental anomaly of the honeybee is described. This anomaly appeared in July 1957 at an apiary in Muttens (Canton Basle-Land) by the brood of a colony suspected of disease. Numerous pupae had a peculiarly dilated, abnormally big head and mostly also a surprisingly shortened abdomen. The anatomical and histological examinations showed that the malformation of the head and abdomen are closely related with an abnormal development of the intestinal canal. The cause of the developmental disturbance is not known.

## ZITIERTE LITERATUR

- DOBROVSKY, T. M. 1951. *Postembryonic Changes in the Digestive Tract of the Worker Honeybee (Apis mellifera L.)*. Cornell Univ. Agric. Exp. Sta. Ithaca, New York (45 pp. 12 pl).
- FYG, W. 1948. *Situs inversus bei der Bienenkönigin*. Mitt. Schweiz. Entom. Ges. 21: 481.
1963. *Anomalien und Krankheiten der Bienenkönigin*. Bull. apicole. VI (1): 7-151.

- GONTARSKI, H. 1937. *Über den Situs inversus und andere Abweichungen im Körperbau der Biene (Apis mellifica L.)*. Z. wiss. Zool. 150: 38-50.
- KUSMENKO, S. 1940. *Über die postembryonale Entwicklung des Darmes der Honigbiene und die Herkunft der larvalen peritrophischen Hüllen*. Zool. Jb., Anat. 66: 463-530.
- LOTMAR, R. 1945. *Die Metamorphose des Bienendarmes*. Beihefte zur Schweiz. Bienenztg. 1: 443-506.
- OERTEL, E. 1930. *Metamorphosis in the Honeybee*. J. Morph. 50: 295-339.
- SNODGRASS, R. E. 1956. *Anatomy of the Honey Bee*. Comstock Publ. Ass. Ithaca, New York (334 pp.).
-



# Development of the third eye in the lizard *Sceloporus occidentalis*

by

**Richard M. EAKIN**

Department of Zoology, University of California, Berkeley

With seven text figures.

*Dedicated to Professor Fritz Baltzer  
in honor of his scientific achievements  
and in appreciation of his personal  
kindness to the author.*

Although the morphogenesis of the reptilian parietal (third) eye, especially its early developmental relationship to the epiphysis or pineal gland, has been studied by several investigators (see STEYN, 1957), some points remain obscure. Hopefully this paper will cast light on three of them, namely: the lateral origin of the third eye, the source of the parietal nerve, and the possible role of organizers.

## MATERIALS AND METHODS

Adults and embryos of the Western Fence Lizard, *Sceloporus occidentalis*, were used in these studies, the former captured in the Berkeley hills by a noose of copper wire (EAKIN, 1957), the latter developed from eggs laid in terraria by gravid females collected in the field. Serial paraffin sections stained with hematoxylin and eosin were prepared from embryos fixed in Bouin's solution at several stages of development from the formation of the primary epiphyseal diverticulum to full differentiation of the parietal eye.

The heads of two adults with anomalies of the third eye were similarly handled for light microscopy. In experiments on nerve degeneration the meninges and parietal nerve of adult lizards were cut transversely a few tenths of a millimeter posterior to the third eye by means of a microscalpel (BURCH 1942), after reflection of the overlying skin. Segments of the nerve anterior and posterior to the incision were later removed, fixed in Dalton's solution (DALTON 1955) and prepared for electron microscopy following the procedures described in previous studies (EAKIN and WESTFALL 1960; EAKIN, QUAY and WESTFALL 1961), except that the epoxy resin, Epon, and lead stains were employed.

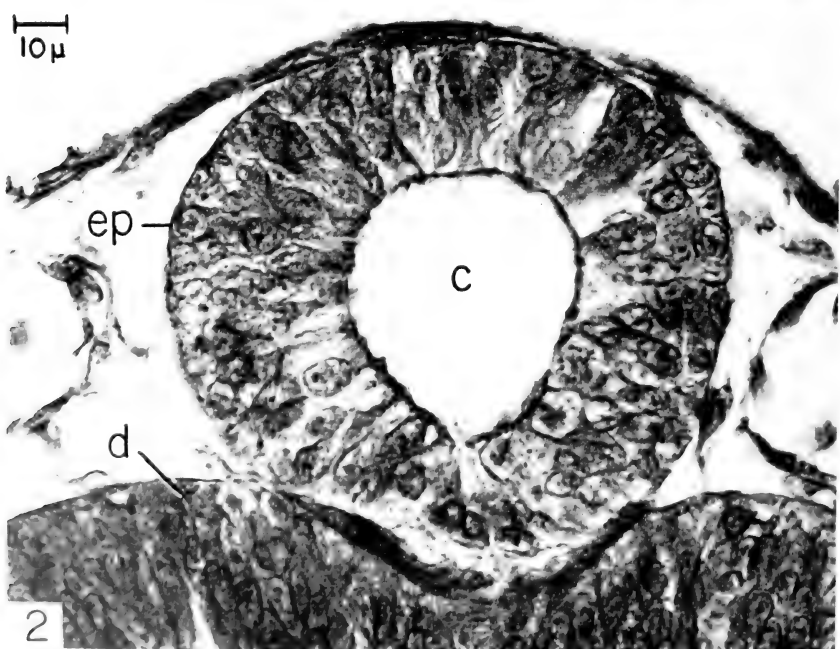
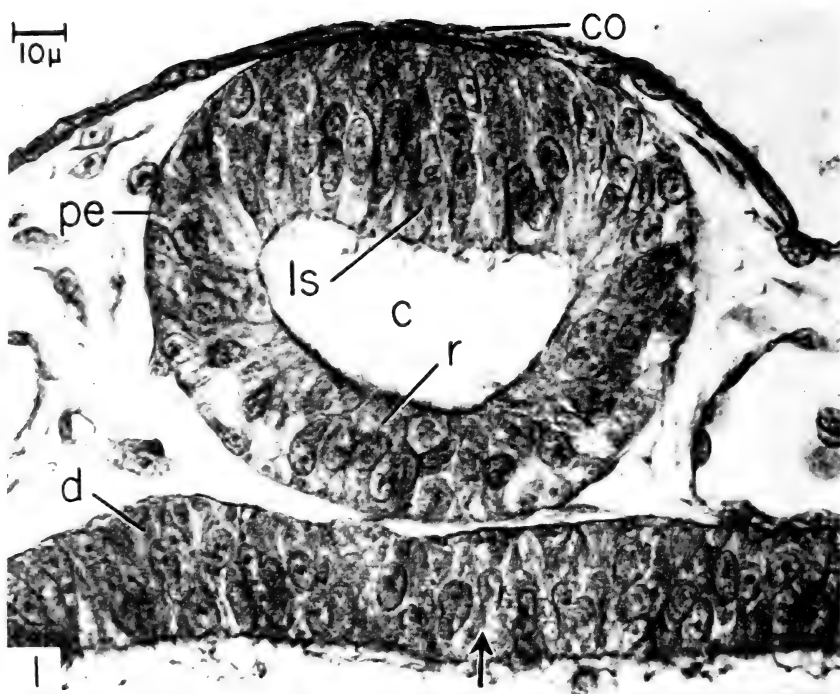
## RESULTS

1. *Lateral origin of the parietal eye.* One of the embryos of *Sceloporus occidentalis* studied had been fixed at the time of constriction of the primary epiphyseal vesicle into the prospective parietal eye and the presumptive pineal organ. The stage corresponded approximately to that in *Cordylus polyzonus* described and figured by STEYN (1957) as stage C (see Steyn's Fig. 4, p. 247). Figs. 1 to 3 of this paper are cross sections of the epiphyseal diverticulum of the above embryo at the following levels: Fig. 1, through the parietal vesicle, already showing evidence of differentiation of lens (*ls*) and retina (*r*); Fig. 2, through the presumptive epiphysis just anterior to the canal connecting the pineal lumen (*c*) and the third ventricle of the diencephalon; and Fig. 3, through the zone of constriction between the parietal and pineal parts of the diverticulum. The reader will observe that the diverticulum is asymmetrical in the region of the constriction (Fig. 3), a feature which I believe to be significant. The lumen is to the left of the midline. The asymmetry of the embryo's heart and gut were used to identify right and left sides of the body. It will be observed, moreover, that much of the right wall of the tube, specifically between the two arrows, is darker than the rest of the diverticulum. That this darker part (outlined in ink) is the anterior end of the epiphysis is clear as one traces it section by section. The remainder of the tube, mostly to the left, is prospective parietal eye. Finally, the parietal vesicle itself lies slightly to the left of the midline (indi-

cated by arrow in Fig. 1), not only in this specimen but in older embryos. The parietal vesicle in *Sceloporus occidentalis*, therefore, appears to be "budded" from the left side of the epiphyseal diverticulum.

2. *Origin of parietal nerve.* It is well known that if a nerve fiber is severed the proximal segment (i. e. the part between the incision and the nerve cell body) survives and regenerates, whereas the distal segment undergoes Wallerian degeneration. Cutting the parietal nerve in a lizard and examining the pieces of the nerve anterior and posterior to the incision for degenerative changes should permit one to determine the location of the nerve cell bodies of the neurones which form the nerve. If degeneration occurs rostral to the transection, the nuclei lie in the brain. If, on the other hand, it is found caudal to the incision, the nuclei are situated in the retina of the eye. The latter alternative was shown to be true by a study of severed parietal nerves in a series of ten animals.

Fig. 4 is a low power electron micrograph of the anterior piece of a severed parietal nerve in an adult *Sceloporus occidentalis* four days postoperative. The nerve fibers are essentially normal in appearance (*cf.* Fig. 20, EAKIN and WESTFALL 1960), except for one feature, namely, dense granules (*g*) scattered in the axoplasm of many fibers, especially the larger ones. Normally these granules are associated with stacks or whorls of cisternae (EAKIN 1963), like those (*s*) seen in one fiber in Fig. 4. The posterior segment of the parietal nerve in the same animal shows marked degeneration (Fig. 5). Most of the nerve fibers have disappeared and those that remain exhibit the same pathological changes observed in Wallerian degeneration in mammals (see GLIMSTEDT and WOHLFART 1960; LEE 1963). They are: swelling and aggregation of mitochondria (*m*), dilation of tubules or vesicles (*v*) and, in final stages of breakdown, fragmentation of organelles (*f*). The sheath cells also show changes: enlargement and probable increase in number, accumulation of small dense granules (*g*), appearance of large lipid (?) droplets (*dp*), and a marked increase in the number of pigment granules (*pg*). The last feature was observed earlier in a study of the nerve in parietectomized lizards (EAKIN and STEBBINS 1959). The conclusion seems clear: the nerve cell bodies of the





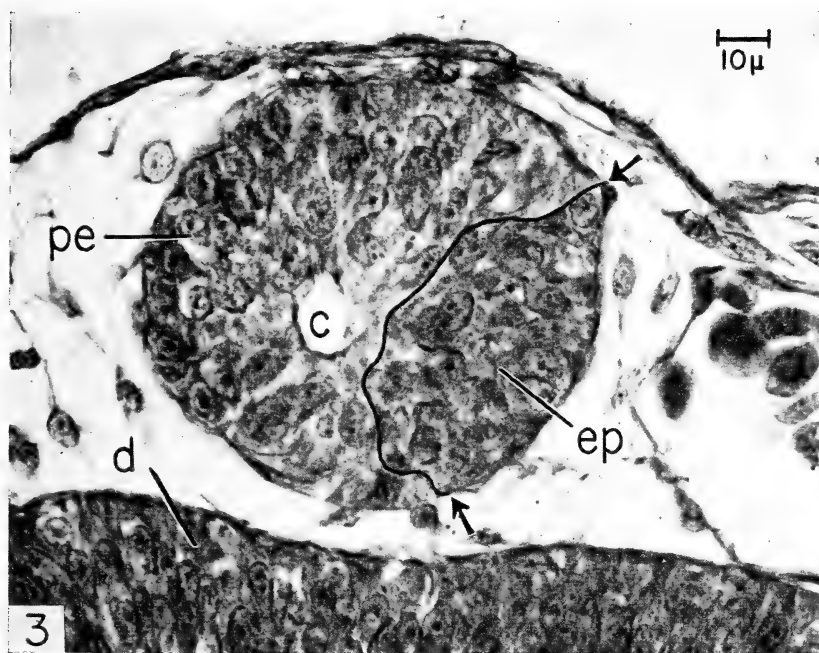


FIG. 1 and 2.

Cross-sectional views of presumptive parietal eye (Fig. 1) and pineal organ (Fig. 2) of the primary epiphyseal diverticulum in an early embryo of *Sceloporus occidentalis*.

*c*, lumen of the organs; *co*, prospective cornea; *d*, roof of diencephalon; *ep*, presumptive epiphysis or pineal organ; *ls*, lens of eye in early stage of differentiation; *pe*, presumptive parietal eye; *r*, future retina. Arrow on Fig. 1 indicates the midline of the embryo.

FIG. 3.

Cross-sectional view of the primary epiphyseal diverticulum of the same embryo shown in Figs. 1 and 2 at the level of junction of presumptive parietal and pineal organs.

*c*, cavity of diverticulum (note small size and position on the left); *d*, diencephalic roof; *ep*, anterior end of prospective epiphysis; *pe*, prospective parietal eye. Arrows and line indicate boundaries between pineal (right) and parietal (left) organs.

neurones which constitute the parietal nerve lie in the retina of the eye.

3. *A developmental anomaly.* The parietal eyes of several hundred *Sceloporus occidentalis* have been examined in one way or

another at Berkeley in recent years. Two instances of incomplete separation of the parietal and pineal divisions of the epiphyseal diverticulum have been observed. One specimen, a sub-adult male

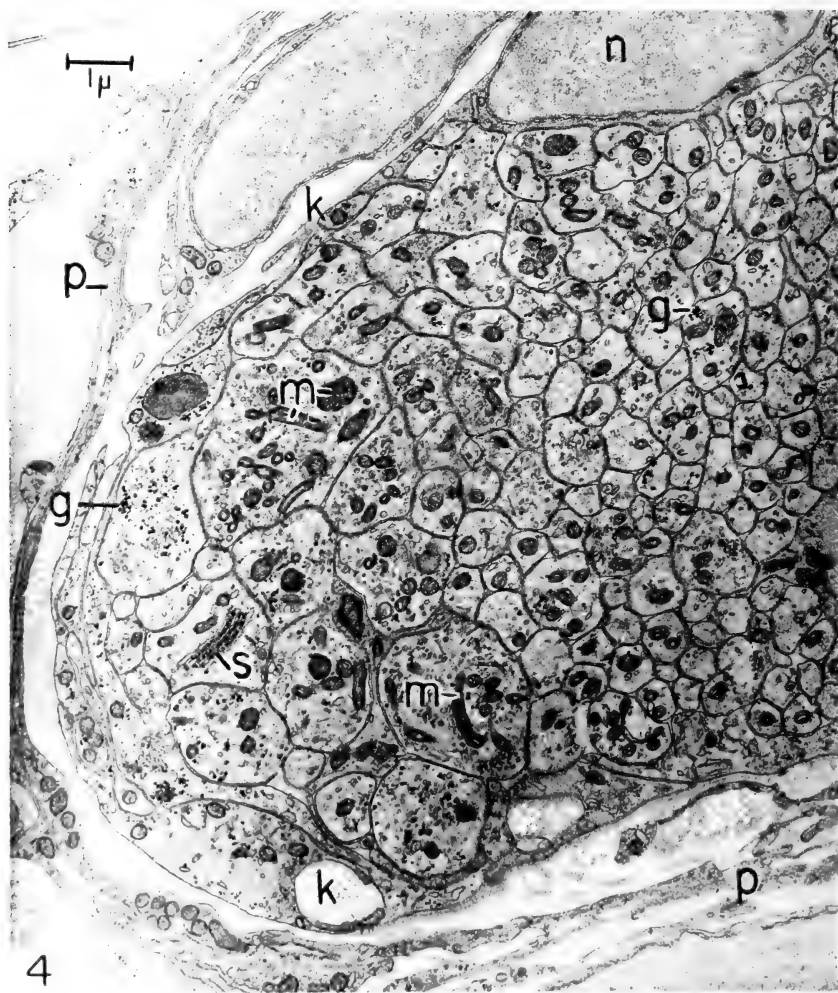


FIG. 4.

Low power electron micrograph of anterior segment of parietal nerve of adult *S. occidentalis* four days after transection. Cross-sectional view of about half of the nerve fibers.

*g*, granules; *k*, bundle of collagenous fibers; *m*, mitochondria; *n*, nucleus of sheath cell; *p*, perineurium; *s*, stack of cisternae with granules.

(snout-vent length of 44 mm.), was captured by my colleague, Robert C. Stebbins, near Berkeley in the course of our study on the effects of ablation of the parietal eye (STEBBINS and EAKIN 1958).

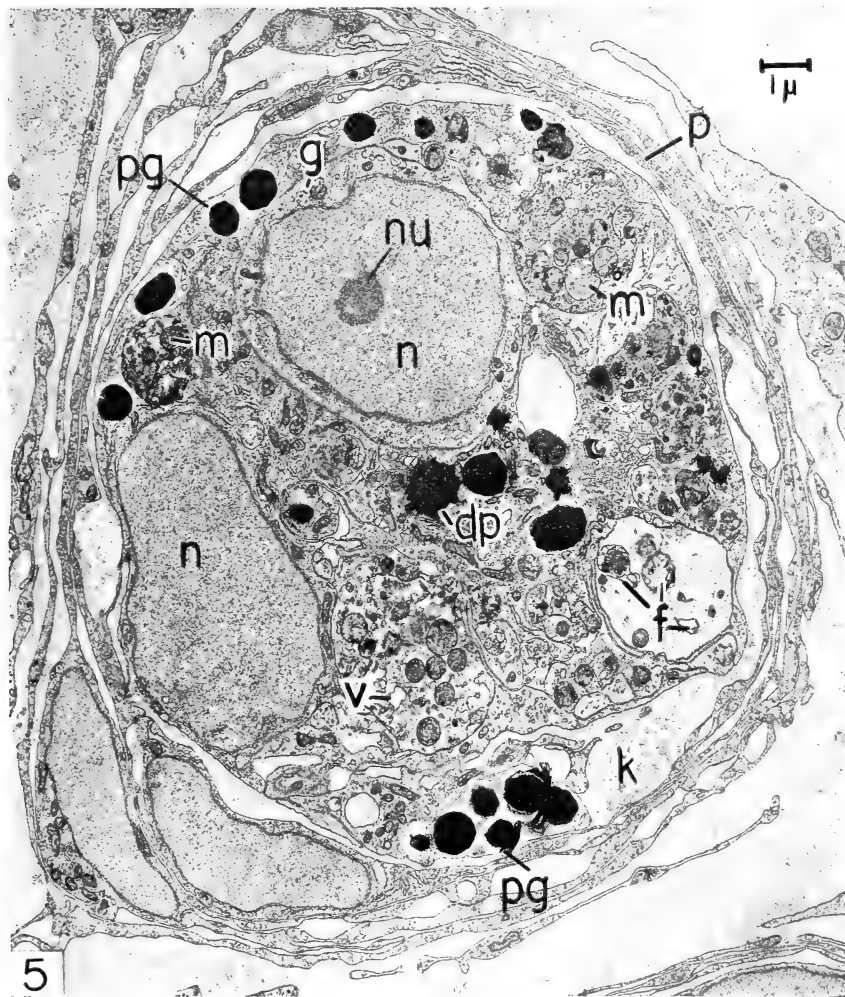


FIG. 5.

Low power electron micrograph of posterior segment of same parietal nerve shown in Fig. 4. Cross-sectional view of entire nerve.

*dp*, osmophilic droplet (lipid ?); *f*, fragments of organelles; *g*, small granules; *k*, collagenous fibers; *m*, mitochondria, swollen and aggregated; *n*, nuclei of sheath cells; *nu*, nucleolus; *p*, perineurium; *pg*, pigment granules; *v*, vesicles.

Stebbins' field notes contain this entry: "no parietal eye whatsoever; no corneal elevation or transparency. Lizard otherwise normal." The head of this animal was later sectioned by Dr. Robert Ortman who was then associated with us on the project. We discovered that actually a third eye was present but attached to the apex of the epiphysis (Fig. 6). Instead of separating from the pineal organ and "migrating" anteriorly to its definitive position above the cerebrum and just beneath the skin, it remained at its site of origin at the diencephalic level and inside the meninges and bony cranium. Normally, the skin above the parietal eye is differentiated into a transparent cornea, having a relatively thick epidermis and a relatively thin and loose dermis containing no chromatophores and a markedly reduced number of collagen fibers. In this specimen, however, the integument at the usual site of the parietal eye was unspecialized, consisting of normally thin epidermis and thick dermis with a full complement of collagen fibers, melanophores and lipophores (see EAKIN, QUAY and WESTFALL 1961). These features account for the lack of transparency of the parietal area noted by Stebbins in the living animal. On the other hand, a large parietal fontanelle in the roof of the cranium was present as is typical of sub-adult fence lizards.

Fig. 7 shows the ectopic parietal eye at higher magnification. It is fully differentiated into lens (*ls*), capsule (*ca*) and a retina (*r*) containing normal sensory, supportive (pigmented) and ganglion (*gc*) cells arranged in typical anatomical relationships, except at the point of attachment of the eye to the tip of the epiphysis. The zone of junction between the retina and the epiphyseal epithelium is somewhat disorganized. The parietal and pineal lumens are not continuous, but the capsules of the two organs are smoothly fused. Although the nerve fibers were not identified in the hematoxylin and eosin stained sections, I have no doubt that some of the fibers at *x* in Fig. 7 are axons of ganglion cells in the eye and that they extend along the anterior face of the epiphysis, the normal course of the parietal nerve.

A second specimen (not figured) was an adult male the head of which was sectioned and stained with the periodic-acid-Schiff (PAS) technique in connection with another study (EAKIN, STEBBINS and WILHOFT 1959). The parietal eye appeared normal under external observations, but it was found later upon micro-

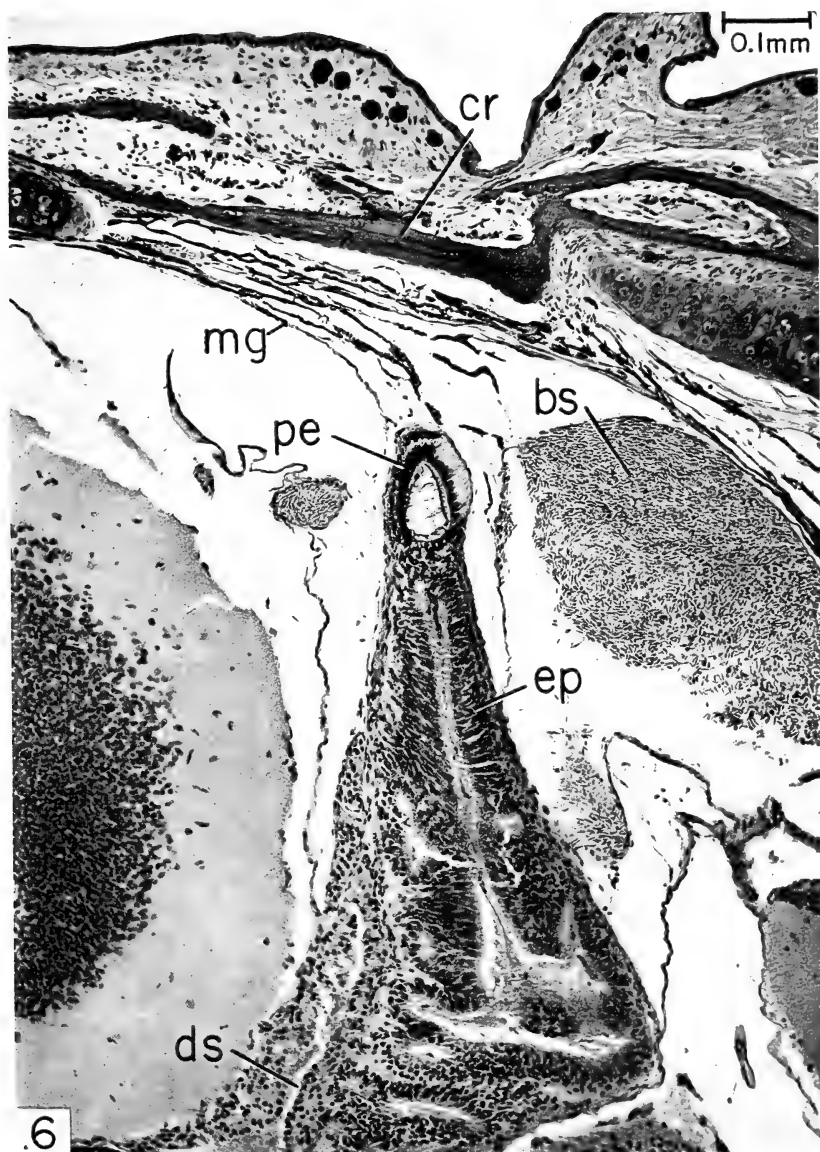


FIG. 6.

Sagittal view of epiphyseal complex of an adult *S. occidentalis* showing an ectopic parietal eye (*pe*) attached to the tip of the epiphysis (*ep*).

*bs*, blood sinus; *cr*, cranium; *ds*, dorsal sac; *mg*, meninges. Anterior is to the reader's left, posterior to the right.

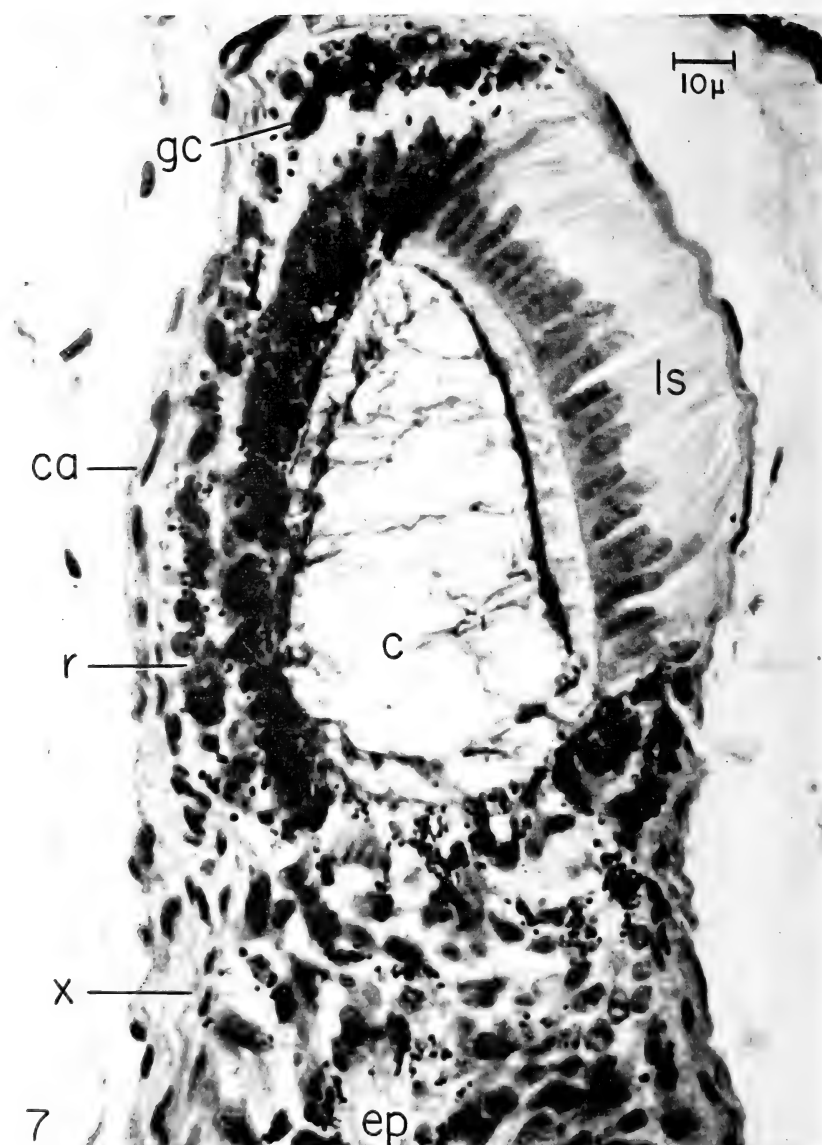


FIG. 7.

Higher magnification of the parietal eye shown in Fig. 6.

*c*, lumen of eye; *ca*, capsule; *ep*, tip of epiphysis; *gc*, ganglion cell; *ls*, lens; *r*, retina; *x*, fibers, some of which are probably nerve fibers (parietal nerve).

scopical examination to be connected to the tip of the epiphysis which in the course of development had become exceedingly elongated. Normally the eye lies between one to three millimeters anterior to the epiphysis. The two organs are connected by the slender parietal nerve running on the under surface of the meninges. In this specimen the epiphysis itself continued forward as a narrow tube (0.1 mm. in diameter) to within  $10\mu$  of the parietal eye. The short gap between the two organs contained connective tissue and the parietal nerve. The latter emerged from the postero-ventral surface of the eye and extended along the ventral (anterior) side of the epiphysis. Professor Stebbins has shown me some of his sections of an alligator lizard, *Gerrhonotus multicarinatus*, in which the normal relationship of epiphysis and parietal eye is very similar to that just described. The same picture is also normally found in certain other lizards (see SCHMIDT 1909).

## DISCUSSION

*Problem of symmetry.*—The parietal eye and its homologue in other vertebrates, such as the amphibian frontal organ, are often referred to as the parapineal organ (see TILNEY and WARREN 1919). The basic anatomical and developmental relationships between this body and the pineal organ have long been a subject of speculation by anatomists, embryologists, and paleontologists. Attention has been given particularly to the question: were they originally—in the ancestral vertebrate—a pair of bilaterally arranged diencephalic diverticula? Those who answer affirmatively point to the following evidence. 1. The course of the parietal nerve is to one side of the midline, whereas the pineal tract lies on the opposite side. Some investigators traced the parietal nerve along the left side of the head and into the left habenular ganglion (see BARGMANN 1943); others, working usually on different species, found it on the right side and connected to the right habenular ganglion (see GLADSTONE and WAKELEY 1940). 2. Another argument for the bilateral origin of the epiphyseal organs is the presence in the fossils of certain Devonian fishes of two foramina transversely oriented in the diencephalic region of the cranium (EDINGER 1956). 3. Several workers have demonstrated that the

parietal eye and epiphysis in certain reptiles arise from separate, side-by-side evaginations of the neural tube. DENDY's work on *Sphenodon* (1911) is especially convincing. In this form the parietal eye develops on the left side as does also the parietal nerve. Bilateral epiphyseal outgrowths have been demonstrated also in fishes (HILL 1891, 1894; LOCY 1894), in amphibians (CAMERON 1903a), and in birds (CAMERON 1903b). Finally, VAN DE KAMER (1949) has shown that the median epiphyseal diverticulum in anurans is formed by the fusion of paired anlagen.

Several investigations, on the other hand, do not support the theory of bilateral origin of pineal and parapineal organs because they show that the two structures arise from a pair of diencephalic diverticula, both of which lie in the midline (see GLADSTONE and WAKELEY 1940). The anterior evagination in many reptiles becomes the parietal eye, the posterior one the epiphysis. Incidentally, STEYN (1957) correctly points out that the anterior vesicle contributes additionally to the cephalic part of the epiphysis. Other workers also cast doubt on the above theory because they trace the pineal and parapineal organs to a single median out-pocketing of the forebrain (see GLADSTONE and WAKELEY 1940). I agree with STEYN (1957, p. 236) that "whether there are one or two primordia [I believe that it is largely a matter of interpretation] it appears that the development always includes a phase in which the parietal organ becomes separated from the epiphysis by a process of constriction." But this question should be raised: does the parietal vesicle exhibit any tendency toward a constriction to one side of the midline?

Most published figures showing the early stages in the development of the parapineal and pineal diverticula in reptiles present a sagittal view, which would not reveal a bilateral pairing of the two organs. DENDY (1899, 1911), as mentioned earlier, found that in *Sphenodon* "the position of the primary parietal vesicle to the left of the middle line is very remarkable, and appears to be constant" (1899, p. 114). NOWIKOFF (1910) illustrates a cross-sectional view of the epiphyseal rudiment (plate III, Fig. 2) which appears asymmetrical to me but he makes no comment on the point. In this paper I have shown that in an embryo of *Sceloporus occidentalis* the parietal vesicle was constricted from the left side of the epiphyseal diverticulum. Unfortunately only one embryo of this



critical stage was available, but in older embryos I found the parietal eye, now separate from the epiphysis, to the left of the midline. DENDY noted the same feature in *Sphenodon*. These observations plus the evidence of two side-by-side epiphyseal outgrowths in other vertebrates and the many records of the course of the parietal nerve on one side of the midline suggest to me that the parapineal and pineal organs are fundamentally bilaterally paired structures, but that in the course of evolution the rostral displacement of the former has almost obliterated its ancestral parasagittal position.

*Origin of parietal nerve.* The parietal nerve was described by several nineteenth century workers (e.g. STRAHL and MARTIN 1888). Contemporary investigators (e. g. STEYN 1957; ROTH and BRAUN 1958) concluded, however, that the nerve although present in the embryo degenerates in the adult. It was shown recently by light microscopy that the nerve in the adults of several lizards persists (EAKIN and STEBBINS 1959) and it was proved to be a true nerve in one of them by electron microscopy (EAKIN and WESTFALL 1960). In *Sceloporus occidentalis*, the same form used in this study, we found that the adult nerve consists of about 250 non-medullated fibers. Occasionally we find a few medullated fibers. Although the fibers were thought to be the axons of the ganglion cells this point could not be established with certainty. The developmental source of the parietal nerve still remained an unsolved problem.

Many workers (e. g. NOWIKOFF 1910) believed that the fibers of the nerve arise from ganglion cells in the retina of the third eye just as in the lateral eyes the axons of the ganglion cells form the optic nerve. Other investigators, both early (e. g. BÉRANECK 1887, 1892) and recent (e. g. STEYN 1959), thought that the parietal nerve originates in the brain. I hope that the second part of this study, namely, the electron microscopy of the severed parietal nerve in *S. occidentalis*, clearly establishes the retina of the third eye as the source of the fibers in the nerve. The segment of the nerve posterior to the point of severance degenerated following surgery, whereas the anterior segment (i. e. between the incision and the eye) was essentially normal. Were the nerve cell bodies of these neurones situated in the brain, one would expect the reverse picture: degeneration anterior to the cut, normal nerve posteriorly.

The precise origin of the nerve fibers is probably the ganglion cells, which can be identified by the large size of their nuclei (*gc*, Fig. 7) and by certain cytological and cytochemical characteristics (EAKIN, QUAY and WESTFALL 1961). In *S. occidentalis* it is estimated that there are about 250 of these cells in the retina of the parietal eye, each sending an axon into the parietal nerve (EAKIN 1960). Although the possibility that some fibers come directly from photoreceptor cells (see Fig. 10 in TROST 1953) has not been excluded, it seems unlikely to me.

*Developmental anomalies.* The two instances of abnormal development of the parietal eye described here permit one to draw the following conclusions regarding the developmental mechanics of the organ. 1. The differentiation of the eye is not dependent upon the attainment of its normal definitive position above the telencephalon, external to the meninges, and in intimate association with the integument (see Fig. 2 of STEBBINS and EAKIN 1958, or Fig. 1 of EAKIN and WESTFALL 1959). One observes that all cell types in the ectopic eye shown here (Figs. 6 and 7) develop fully and in typical morphological relationships with one another even though the organ failed to separate from the epiphysis and lies below the meninges and bony cranium at the diencephalic level of the brain. SCHMIDT (1909) described an embryo of *Lacerta vivipara* in which a parietal vesicle although still attached to the epiphysis was differentiating a lens. Schmidt's description is very brief and his figure is only an outline drawing. I conjecture, however, that had that *Lacerta* embryo completed development the picture of its epiphyseal complex would have been very similar to the one presented here.

2. The second conclusion is a corollary of the first: the parietal eye appears to be a self-differentiating system. By that I do not exclude the possibility of inductive factors operative before or at the time of formation of the primary epiphyseal diverticulum. It seems to me, however, that the third eye arises from an independent and definitely circumscribed anlage. Not only does the ectopic eye figured here exhibit normal differentiation morphologically, histologically, and cytologically, but the boundary between eye and epiphysis is clear except for the connective tissue capsules of the two organs which blend smoothly, and with the exception of some irregularities in the retina at the zone of junction with the

epiphysis. The latter represents, in my opinion, the effect of atypical mechanical factors, namely, those resulting from a lack of a complete capsule, rather than an integration of parietal and epiphyseal organs. In other words, I see no evidence of regulation. If the embryonic parapineal and pineal rudiments constituted a harmonious equipotential system I should expect a less distinct boundary between the two structures and an abnormally large (or small) lens or retina; but, as we see, all parts show normal proportions.

The only evidence, known to me, of possible inductive action is an instance of an abnormal epiphyseal diverticulum in *Anguis fragilis* described by TROST (1953) in which the pineal part of the primary evagination was atypically high and in contact with the presumptive epidermis. The dorsal wall of the prospective epiphysis looked like the presumptive lens of the parietal eye in normal embryos of the same age, according to Trost, because of the paucity of cells which appear to be forerunners of sensory elements. Therefore she concluded that the epidermis exercises a lens-inducing influence upon that part of the primary outpocketing which comes in contact with it. —Normally this is the prospective lens of the parietal eye, but in Trost's atypical embryo it was the dorsal wall of the presumptive pineal organ. Without an examination of the actual preparations an independent judgement cannot be made, but I am not convinced from Trost's drawings that the dorsal wall of the very young epiphyseal diverticulum in her embryo is indeed differentiating into a lens. Moreover, I note in the literature figures showing both pineal and parapineal parts of the normal primary diverticulum in intimate contact with the skin ectoderm (e. g. Fig. 29 of Plate 25 in DENDY 1911 and Fig. 2 in STEYN 1957), yet a lens forms only in the parietal eye.

3. The differentiation of the cornea, on the other hand, appears to be dependent upon the inductive action of the parietal vesicle or perhaps more specifically the lens of the third eye. As we have seen in the lizard with the ectopic eye described and figured here, the integument above the normal site of the eye shows no morphological or histological features of a cornea. The reader will recall that in the development of the lateral eye the lens is an organizer for the cornea (see MANGOLD 1931).

## SUMMARY

1. The early development of the parietal eye in the Western Fence Lizard, *Sceloporus occidentalis*, was studied by light microscopy of paraffin sections of embryos of varying age. Evidence is presented that the eye arises from the *left* side of the epiphyseal diverticulum. The ancestral relationship of the pineal and parapineal organs is discussed in the light of this observation and those of other investigators.

2. Information on the origin of the nerve fibers in the parietal nerve was obtained by electron microscopy of the severed nerve in adults of *S. occidentalis*. The segment of the nerve posterior to the transection degenerates suggesting that the nerve cell bodies of the neurones which form the nerve lie in the retina of the third eye. Thus the nerve grows from the eye to the brain.

3. Ectopic parietal eyes in two adult fence lizards were described and one of them figured. From these specimens certain inferences regarding the developmental mechanics of the eye were made: *a)* The anlage of the eye is definite, circumscribed, and self-differentiating. *b)* The eye is not a harmonious-equipotential system. *c)* The cornea is induced by the parietal vesicle.

## ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Zauneidechse (*Sceloporus occidentalis*) entsteht das Parietalauge aus einer Ausstülpung der embryonalen Gehirnwand, welche auf der linken Seite der primären Epiphysenanlage abgeschnürt wird. Da nach Durchtrennung des Parietalnerven elektronenmikroskopisch keine Degenerationserscheinungen im proximalen Abschnitt des Nerven gefunden wurden, muss man annehmen, dass die Fasern des Parietalnervs ihren Ursprung im dritten Auge haben und von dort in das Gehirn auswachsen. Es werden ferner zwei Fälle von abnormer Entwicklung des Parietalauges beschrieben; bei diesen fehlt die Cornea. Verf. nimmt an, dass die Determination des Parietalauges früh erfolgt, dass aber der auslösende Faktor für die Corneabildung wahrscheinlich in der Linse zu lokalisieren ist.

## RÉSUMÉ

L'oeil pinéal du Scélopore occidental (*Sceloporus occidentalis*) se développe à partir d'une évagination de la paroi embryonnaire du cerveau. Cette évagination se sépare, du côté gauche de l'ébauche épiphysaire. La section des nerfs pinéaux n'entraîne aucune dégénérescence, décelable au microscope électronique, dans la partie proximale du nerf. Il faut donc en conclure que les fibres du nerf pinéal proviennent du troisième œil et se dirigent de là vers le cerveau.

L'auteur décrit deux cas d'yeux pinéaux anormaux, n'ayant point de cornée. Il admet que la détermination de l'œil pariétal est précoce et que l'agent inducteur de la cornée se trouve probablement dans le cristallin.

## ACKNOWLEDGEMENTS

These studies were supported by grants from the National Science Foundation and the United States Public Health Service. I am grateful to Mrs. Patricia Baker, Mrs. Roberta Hess, Dr. Robert Ortman, and Miss Jane Westfall for assistance in the light and electron microscopy of the specimens and in the preparation of the paper. I thank Dr. Robert C. Stebbins for permission to describe the ectopic eye in a lizard which he collected in the course of our joint field study and Drs. Stebbins and Wilbur B. Quay for a critical reading of the manuscript.

## REFERENCES

- BARGMANN, W. 1943. *Die Epiphysis cerebri*. in *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*, herausgegeben von W. v. Möllendorff, Springer-Verlag, Berlin, 6: 309-502.
- BÉRANECK, E. 1887. *Über das Parietalauge der Reptilien*. Jena. Z. Naturwiss. 21: 374-410.
- 1892. *Sur le nerf pariétal et la morphologie du troisième œil des Vertébrés*. Anat. Anz. 7: 674-689.
- BURCH, A. B. 1942. *A microscalpel for use in experimental embryology*. Science 96: 387-388.
- CAMERON, J. 1903a. *On the origin of the pineal body as an amesial structure, deduced from the study of its development in Amphibia*. Anat. Anz. 23: 394-395.
- 1903b. *On the origin of the epiphysis cerebri as a bilateral structure in the chick*. Proc. Roy. Soc. Edinburgh 25: 160-167.

- DALTON, A. J. 1955. *A chrome-osmium fixative for electron microscopy*. Anat. Record 121: 281.
- DENDY, A. 1899. *On the development of the parietal eye and adjacent organs in Sphenodon (Hatteria)*. Quart. J. Microsop. Sci. 42: 111-153.
- 1911. *On the structure, development and morphological interpretation of the pineal organs and adjacent parts of the brain in the tuatara (Sphenodon punctatus)*. Phil. Trans. Roy. Soc. London Ser. B 201: 227-331.
- EAKIN, R. M. 1957. *Use of copper wire in noosing lizards*. Copeia No. 2: 148.
- 1960. *Number of photoreceptors and melanocytes in the third eye of the lizard, Sceloporus occidentalis*. Anat. Rec. 138: 345.
- 1963. *The effect of vitamin A deficiency on photoreceptors in the lizard, Sceloporus occidentalis*. Vis. Res. (in press).
- QUAY, W. B. and WESTFALL, J. A. 1961. *Cytochemical and cytological studies of the parietal eye of the lizard, Sceloporus occidentalis*. Z. Zellforsch. 53: 449-470.
- and STEBBINS, R. C. 1959. *Parietal eye nerve in the fence lizard*. Science 130: 1573-1574.
- STEBBINS, R. C. and WILHOFT, D. C. 1959. *Effects of parietectomy and sustained temperature on thyroid of lizard, Sceloporus occidentalis*. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101: 162-164.
- and WESTFALL, J. A. 1959. *Fine structure of the retina in the reptilian third eye*. J. Biophysic. Biochem. Cytol. 6: 133-134.
- — 1960. *Further observations on the fine structure of the parietal eye of lizards*. J. Biophysic. Biochem. Cytol. 8: 483-499.
- EDINGER, T. 1956. *Paired pineal organs*. Progr. Neurobiol. pp. 121-129.
- GLADSTONE, R. J. and WAKELEY, C. P. G. 1940. *The Pineal Organ*. Baltimore, Williams and Wilkins Co.
- GLIMSTEDT, G. and WOHLFART, G. 1960. *Electron microscopic observations on Wallerian degeneration in peripheral nerves*. Acta morph. neerl. scandin. 3: 135-146.
- HILL, C. 1891. *Development of the epiphysis in Coregonus albus*. J. Morphol. 5: 503-510.
- 1894. *The epiphysis of Teleosts and Amia*. J. Morphol. 9: 237-268.
- LEE, J. C. 1963. *Electron microscopy of Wallerian degeneration*. J. Comp. Neurol. 120: 65-79.
- LOCY, W. A. 1894. *The derivation of the pineal eye*. Anat. Anz. 9: 169-180.
- MANGOLD, O. 1931. *Das Determinationsproblem. Das Wirbeltierauge in der Entwicklung und Regeneration*. Ergebn. Biol. 7: 193-403.

- NOWIKOFF, M. 1910. *Untersuchungen über den Bau, die Entwicklung und die Bedeutung des Parietalauges von Sauriern*. Z. Wiss. Zool. 96: 118-207.
- ROTH, C. und BRAUN, R. 1958. *Zur Funktion des Parietalauges der Blindschleiche Anguis fragilis (Reptilia; Lacertilia, Anguidae)*. Naturwissenschaften 45: 218-219.
- SCHMIDT, W. J. 1909. *Beiträge zur Kenntnis der Parietalorgane der Saurier*. Z. Wiss. Zool. 92: 359-426.
- STEYN, W. 1957. *The morphogenesis and some functional aspects of the epiphyseal complex of lizards*. J. Comp. Neurol. 107: 227-251.
- 1959. *Epithelial organization and histogenesis of the epiphysial complex in lizards*. Acta Anat. 37: 310-335.
- STEBBINS, R. C. and EAKIN, R. M. 1958. *The role of the "third eye" in reptilian behavior*. Am. Museum Novitates No. 1870: 1-40.
- STRAHL, H. und MARTIN, E. 1888. *Die Entwicklung des Parietalauges bei Anguis fragilis und Lacerta vivipara*. Arch. Anat. Entw. pp. 146-163.
- TILNEY, F. and WARREN, L. F. 1919. *The morphology and evolutionary significance of the pineal body*. Am. Anat. Mem. No. 9: 1-257.
- TROST, E. 1953. *Die Histogenese und Histologie des Parietalauges von Anguis fragilis und Chalcides ocellatus*. Z. Zellforsch. 38: 185-217.
- VAN DE KAMER, J. C. 1949. *Over de Ontwikkeling de Determinatie en de Betekenis van de Epiphyse en de Paraphyse van de Amphibien*. Arnhem, G. W. van der Wiel and Co.
-





# Fetal stage of a male pseudohermaphrodite<sup>1</sup>

by

**Emil WITSCHI<sup>2</sup> and Saylo MUNEMITSU<sup>3</sup>**

State University of Iowa, Iowa City, Iowa

With 1 text figure and 2 plates.

## INTRODUCTION

The last two or three decades have witnessed a rapidly increasing interest in the scientific study of human sex abnormalities. As a consequence of more liberal attitudes toward all matters and aspects of sex, individuals affected by some abnormality abandoned traditional reticence and in increasing numbers sought council from doctors and in hospital clinics. It then became obvious that functional and morphologic deviations from normal sex occur much more frequently than ever had been suspected. Estimates range from one percent to one promille, depending largely on definition of limits.

Progress in the analysis of teratogenic causes and mechanisms of sex aberrations is marked by several signal discoveries which have become of decisive technical assistance in the interpretation of clinical cases. The observation by MOORE, GRAHAM and BARR (1953) that a special chromatin particle occurs almost regularly in the nuclei of somatic cells in normal women but only

---

<sup>1</sup> Supported by grants of the National Science Foundation and the National Institutes of Health.

<sup>2</sup> Present address: Anatomical Institute, Faculty of Medicine, University of Basel, Basel, Switzerland.

<sup>3</sup> Present address: 18450 Daves Avenue, Monte Sereno, Cal. U.S.A.

infrequently in men, furnished a valuable guide in the appraisal of the genetic constitution of intersexes. A more detailed cytogenetic analysis became possible after TIJO and LEVAN (1956) had established the normal human chromosome number as 46, including a pair of sex chromosomes: XX in women, XY in men. Parallel with the cytogenetic advances went progress in the morphogenetic analysis of intersexual types. Most important in this field was the discovery by JOST (1947)—supported by experiments on rabbit fetuses—that the female pattern of gonaducts and external genitalia establishes itself by self-differentiation. In the absence of gonads, all fetuses without regard to genetic sex, suffer regression of the mesonephric ducts but retain the oviducts which differentiate into tubes, uteri and vaginae. On the other hand, differentiation of the male pattern depends on the presence of normal or implanted male gonads. Human cases of primary agonadism may be of XX, XY, or XO sex chromosome constitution; their external and internal secondary sex characters are always of female castrate type.

Male pseudohermaphroditism, with which the present paper is concerned, is characterized by the coexistence of male gonads and female or mixed male and female secondary sex characters. This syndrome may possibly be of non-genetic origin in some instances, but as a rule it is inherited. Through the co-operative work of JACOBS, BAIKIE, BROWN, FORREST, ROY, STEWART and LENNOX (1959) it is now established that affected individuals have a male chromosome pattern (XY), normal in appearance, but carrying a mutant gene either in the X chromosome (sex-linked) or in one of their maternal autosomes (sex-limited). Male pseudohermaphrodites are always unable to reproduce. All recent reviewers refer to the fact that usually the testes are small and always histologically abnormal (HAUSER 1963, JONES and SCOTT 1958, WILKINS 1957). The comparative study of types of different ages leads to conjecture that the abnormality of the secondary genital organs may date back to the second month of intrauterine development (stage 34<sup>1</sup>, size 26-45 mm, age 56-70 days) and that of the gonads to even younger stages. It is therefore desirable to extend the study of the syndrome to early embryonic and fetal

<sup>1</sup> For stage designations see ALTMAN and DITTMER 1962.

stages. The desired abnormal cases can be expected to be found only among large collections.

### FETAL HERMAPHRODITE OF 56 mm (TA<sub>1</sub>)

When this fetus, obtained after therapeutic abortion, was dissected out of the intact chorionic and amniotic membranes and preserved, it was judged to be of female sex, on the basis of external appearance. Only several months later, as it was prepared for sectioning, some doubts arose because an abnormal combination of male and female traits was recognized. A picture of the general morphology of the case was shown in a report on the *Embryology of the Uterus* (WITSCHI 1959).

According to the classical investigation of SPAULDING (1921) the human external genitalia supposedly are sex-dimorphic already in embryos with crown-rump lengths of from 16-38 mm. However, it is emphasized that the "approximately final form" of the male genitalia becomes established only in fetuses 38-45 mm long. This period includes particularly the "merging of the basal portions of the urethral folds into the raphe". WILSON (1926), in a critical reinvestigation, comes to the conclusion that though male and female types can be distinguished very early, sexing on the basis of external appearance is difficult and unreliable in fetuses smaller than 40 mm. He found testes in an exceptional case of 50 mm with female-type external genitals and therefore holds that only in fetuses above 50 mm sex may safely be identified on the basis of outside appearance. SZENES (1924) presents similar facts and interpretations, but believes that sex can be recognized reliably in fetuses from size 18 mm on.

Evidently our 56 mm fetus with mixed male and female traits falls outside the period of normal sex differentiation and the standards for male and female anatomy, as set up by all three investigators. As in normal females, the phallus points downward, the glans is round, not of the size and shape characteristic for males; the major labia have not shifted anally, as is the case with the homologous scrotal swellings in normal males of same size. Most remarkable is the persistence of a female-type open urogenital vestibule. Internally, testes are present; but undescended, they

are in the position normally held by ovaries. Consequently, the ligaments investing the mesonephric and oviducal rudiments are arranged as in normal females. However, the gubernacula are well developed and inguinal depressions are quite distinct. As sections prove, the oviducts are reduced to vestiges nearly as thin as in control males.

The testes are small, measuring in all directions barely more than half the normal dimensions (compare figs. 1 and 2) and their volume is only one sixth that of controls. Histologically they are underdeveloped. The seminal tubules are few and sparsely distributed. The interstitium is deficient, leaving a ragged surface of the medullary core toward the relatively thick albuginea. Luteinized interstitial cells are scattered through the connective tissue (fig. 3), but even their relative number falls behind that in control testes (fig. 4). The seminal tubules contain a reduced number of spermatogonia (compare figs. 3 and 4) and the sustentacular cells (of Sertoli) are predominant. The average diameter of the tubules with  $41\ \mu$  is significantly below that of the normal control ( $50\ \mu$ ).

The mesonephric bodies are in proportion smaller than those of controls (figs. 1, 2). The mesonephric ducts are fully maintained and open separately into the urogenital sinus (fig. 5), slightly above the end of the vaginal rudiment. The oviducts and the utero-vaginal rudiment are nearly as far regressed as in normal males of this stage, except for the lowest (vaginal) part. Where it approaches the urogenital sinus, it is of the size and structure normally seen in females (figs. 5, 6). It has not fused with the deferent ducts.

## DISCUSSION

The small size and the histologic deficiency of the testes of fetus  $TA_1$  evidently are related to its hermaphrodite features. Since in the absence of gonads the entire secondary sex characters acquire the female expression, it is justified to assume that the various forms of male pseudohermaphroditism are the results of different degrees of insufficiency of fetal testes. This interpretation is graphically expressed in fig. 7. Extremely small and inefficient testes (A) may only cause preservation of uppermost parts of the

deferent ducts, without suppressing the oviducts nor preventing their differentiation into tubes, uterus and vagina. They do not influence the development of the external genitalia which assume the female conformation. The small testicles do not actively descend but remain stationary where normal ovaries would be located. Possibly some agonadic "women" with XY (male)

### *Male Pseudohermaphrodites XY*

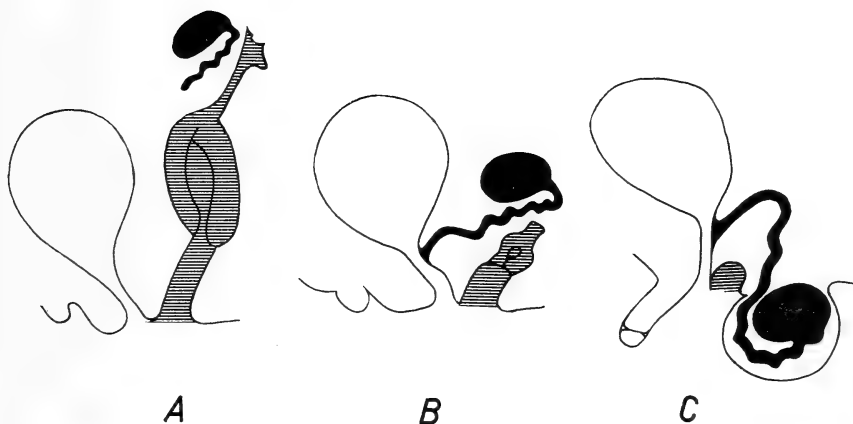


FIG. 7.

Male pseudohermaphrodites. Diagram illustrating in three steps the relationship between size (and quality) of testes and inductive performance. *Black*: testes and mesonephric ducts. *Cross hatched*: derivatives of oviducts. *White*: phallus. Testes remain at the site normal for ovaries (A), descend in the inguinal region (B), or into labio-scrotal positions (C).

chromosome constitution and entirely female secondary sex characters might be added at the left of this series. The other extreme (C) is represented by cases with relatively large testes that descend into the major labia, sometimes creating an impression of double scrotal sacs. The mesonephric derivatives, epididymides and deferent ducts, are fairly completely preserved, while of the oviducts only small vaginal vestiges may persist. The phallus is much enlarged but hypospadiac, the urethra opens in the perineum. Between these extremes range many intermediate forms, here (fig. 7) represented by type B. The testes of intermediate size

have descended into the inguinal region and deferent ducts connect with the urethra. The vagina is small, the clitoris slightly enlarged. In short, the pattern of the secondary sex organs depends directly on size and inductive capacity of the testes.

Since in families with several affected members the type remains surprisingly uniform, one must assume that the abnormal gene occurs in several allelic forms or is closely associated with some modifiers.

The described embryo TA<sub>1</sub> is chromatin-negative hence of XO or XY constitution. Since XO individuals only very exceptionally have testicular gonad rudiments, it is permissible to assume that this case, like the chromosomally studied male pseudohermaphrodites, has a typical male chromosome complement. The prevailing assumption among cytogeneticists concerning "the function of the X chromosome" gives it the role of "a testis determiner" (POLANI 1962). However, a number of true hermaphrodites with the female XX constitution prove that testicular development is possible also in the absence of a Y. A recent examination of slides of an ovotestis (case described by BREWER, JONES and CULVER 1952) shows that the interstitial cells between the seminal tubules are chromatin-positive (Witschi and Klinger, unpublished). This finding is important because the medulla of the primitive gonad from which the interstitium derives, is now generally assumed to be the inductor of male differentiation. The cattle free martins as well as experimentally sex reversed birds and amphibians prove that the function of sex chromosomes is of a more restricted and yet more complex nature than usually assumed (WITSCHI and OPITZ 1963). Considering that in evolution gonochorism derives from hermaphroditism, and that embryologically testes and ovaries develop from ambisexual primordial gonads, it becomes quite evident that the "testis determiner" must have the prime and possibly the sole function of suppressing the development of the cortical component at the time when the gonad reaches the proper developmental stage (St. 32). Testis determiners act as cortex suppressors whether it be the sex determining gene carried in the Y chromosome, or a postgenetic (environmental) factor (parabiosis, hormone injection, surgical ablation) that causes "sex reversal" i.e. testicular development in a genetic female.

These assumptions conform with the appearance of the testes of the pseudohermaphrodite TA<sub>1</sub>. The Y chromosome of paternal origin can be assumed to be normal. Sex differentiation has evidently taken the normal course. Even though the testes are small and otherwise deficient, the cortex has been reduced as in normal male fetuses—absorbed by the medulla and integrated into the testis. The developmental stage reached by the testes is the same as in the control. The defects, due to genes of maternal origin, are of different nature. The small number of germ cells might possibly have been the primary disturbance; but also the reduced size of the mesonephric bodies and of the entire testes may be direct genic effects. It seems unlikely that the gene mutation is entirely of a quantitative nature: one should expect that a reduction by volume of 6 to 1 would produce less noticeable changes in the development of the secondary sex characters. Unexplained remains the active feminization at the time of puberty, which can express itself not only in the growth of the breasts but sometimes also in a partially feminine type of pelvis development.

The above considerations lead to the conclusion that all genes directing testicular and ovarian development are located in the autosomes and X chromosomes.

The fact that already at the early stage 35 the testes of the present case are so small, indicates that they were deficient from the very beginning of gonad development. Stage 35 corresponds to the condition reached by the rat at birth. In this species PFEIFFER (1935) has shown that at this stage the testis has a decisive influence on the hypothalamo-hypophyseal system; males and females castrated at birth retain the innate cyclic function which in intact females governs the estrus periods. On the other hand the presence of intact or implanted testes in males, females, and castrates effaces the cycles and a constant functional level is established which in grafted females expresses itself in a constant estrus condition. Cyclic or non-cyclic function was ascertained by observation of ovarian grafts in the anterior eye chamber after the adult stage had been reached (PFEIFFER 1936). TAKEWAKI (1962) used grafts in the spleen to corroborate these findings. It seems not unlikely that also in the human species the cyclic nature of gonadotropin release in women represents the neutral condition, which becomes changed to stationary levels by the presence of

normal testes in male fetuses, most probably about stage 35. If this is the case, one might expect that the malfunctioning testes of some pseudohermaphrodites may not be able to extinguish the cyclic potentialities. In the literature mention is occasionally made of reports by patients on cyclic phenomena such as periodic swelling and tingling of the breasts and even monthly discharge (lit. in HAUSER). The case described by WITSCHI and MENGERT (1941) definitely insisted on having experienced regularly such periodic development of her breasts. Interestingly, histologic studies of the testes, which were situated in pendulous labio-scrotal pouches, indicate that there existed also a cycle of spermatogenic activity. Gonadotropin cycles in male pseudohermaphrodites may easily escape observation by the attending physician, because of the absence of suitable target organs. It is however possible that they are linked with estrogen production, particularly at the age of puberty, and might be detected by a study of blood levels over sufficiently extended periods.

## SUMMARY

1. A human fetus of 56 mm crown-rump length is described with the mixture of male and female sex characteristics that is typical for male pseudohermaphrodites.

2. The testes are small, about 1/6 in volume of normal controls. Histologically a deficiency in the relative numbers of spermatogonia and of interstitial cells is noted.

3. The inductive capacity of the testes is below normal levels and has not reached the external genitalia which are of neutral (female) type.

4. Rudiments of periodic phenomena that have been observed in some adult pseudohermaphrodites seem to furnish proof that at the critical stage during the second and third month of fetal development the small testes are not able to efface the innate cyclic pattern of gonadotropin release.

5. Consideration of the genetic and developmental situation leads to conclude that it is the function of the Y chromosome to cause suppression of cortical (ovarian) development and, thereby,



to determine male differentiation of the primordial sex glands. All genes necessary for testicular as well as ovarian development are contained in the X chromosomes and autosomes.

### ZUSAMMENFASSUNG

1. Ein menschlicher Foetus von 56 mm Kopf-Steiss Länge wird beschrieben; er zeigt ein für männliche Pseudohermaphroditen typisches Mosaik von männlichen und weiblichen Geschlechtsmerkmalen.

2. Die Hoden sind unterentwickelt und betragen nur etwa 1/6 der normalen Grösse. Histologisch ist die relativ kleine Zahl der Spermatogonien und Zwischenzellen bemerkenswert.

3. Das Induktionsvermögen der Hoden ist subnormal, da die äusseren Geschlechtsteile unbeeinflusst (weiblich) geblieben sind.

4. Die Anklänge eines Genitalzyklus, die bei adulten Pseudohermaphroditen manchmal beobachtet werden, sind wahrscheinlich auf die ungenügende Maskulinisierung des Gonadotropinzyklus durch die foetalen Hoden zurückzuführen.

5. Genetische und entwicklungsphysiologische Erwägungen führen zum Schluss, dass das Y Chromosom essentiell die Funktion hat, die kortikale (ovarielle) Entwicklung zu verhindern und damit männliche Entwicklung der Gonade zu bestimmen. Die X Chromosomen und Autosomen enthalten alle Gene, die für Hoden- und Eierstockentwicklung nötig sind.

### RÉSUMÉ

1. Un foetus humain, long de 56 mm et présentant les traits caractéristiques d'un pseudohermaphrodite mâle, est décrit.

2. Les testicules sont petits, leur volume n'atteint que le sixième des normaux. Histologiquement on décèle un déficit en spermatogonies et en cellules interstitielles.

3. Le pouvoir inducteur des testicules est fortement réduit puisque les organes génitaux extérieurs sont demeurés du type neutre.

4. Parfois des phénomènes périodiques se manifestent chez des pseudohermaphrodites adultes. Ils indiquent que pendant certains stades critiques du développement intra-utérin les testicules ne sont pas parvenus à faire virer au type mâle le cycle de décharge des gonadotropines.

5. L'étude génétique et embryologique des hermaphrodites suggère que la suppression du développement cortical (ovarien) est due au chromosome y, qui assure ainsi la différenciation testiculaire.

### BIBLIOGRAPHY

- ALTMAN, P. L. and DITTMER, D. S. 1962. *Growth including reproduction and morphological development*. Biological Handbooks. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. Washington, D.C.
- BREWER, J. I., JONES, H. O. and CULVER, H. 1952. *True hermaphroditism*. J. Am. Med. Assoc. 148: 431-435.
- HAUSER, G. A. 1963. *Testicular feminization*. Intersexuality pp. 255-276, ed. C. Overzier; Academic Press, London and New York.
- JACOBS, P. A., BAIKIE, A. G., COURT BROWN, W. M., FORREST, H. ROY, J. R., STEWART, J. S. S. and LENNOX, B. 1959. *Chromosomal sex in the syndrome of testicular feminisation*. The Lancet II Oct. 17, 1959: 591-592.
- JONES, H. W. and SCOTT, W. W. 1958. *Hermaphroditism, genital anomalies and related endocrine disorders*. Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- JOST, A. 1947. *Rôle des gonades fœtales dans la différenciation sexuelle somatique*. Arch. Anat. micr. Morph. exp. 36: 271-315.
- MOORE, K. L., GRAHAM, M. A. and BARR, M. L. 1953. *The detection of chromosomal sex in hermaphrodites from a skin biopsy*. Surg., Gynec. and Obst. 96: 641-648.
- PFEIFFER, C. A. 1935. *Origin of functional differences between male and female hypophyses*. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 32: 603-605.
1936. *Sexual differences of the hypophyses and their determination by the gonads*. Am. Jour. Anat. 58: 195-225.
- POLANI, P. E. 1962. *Sex chromosome anomalies in man*. Chapt. 7 of Chromosomes in medicine, pp. 73-139; ed. J. L. Hamerton, Nat. Spastics Soc. and Heinemann Med. Books, London.
- SPAULDING, M. H. 1921. *The development of the external genitalia in the human embryo*. Contribs. Embryol. 61: 67-88 Carnegie Inst. Wash.

- SZENES, A. 1924. *Über Geschlechtsunterschiede am äusseren Genitale menschlicher Embryonen, nebst Bemerkungen über die Entwicklung des inneren Genitales*. Morph. Jahrbch. 54: 65-135.
- TAKERWAKI, K. 1962. *Some experiments on the control of hypophyseal-gonadal system in the rat*. Gen. comp. Endocr. Suppl. 1: 309-315.
- TIJO, J. H. and LEVAN, A. 1956. *The chromosome number of man*. Hereditas 42: 1-6.
- WILKINS, L. 1957. *The diagnosis and treatment of endocrine disorders in childhood and adolescence*. 2nd ed. Charles C. Thomas, Springfield, Ill.
- WILSON, K. M. 1926. *Correlation of external genitalia and sex glands in the human embryo*. Contr. Embryol. 91: 23-20. Carnegie Inst. Wash.
- WITSCHI, E. 1959. *Embryology of the uterus, normal and experimental*. Ann. New York Acad. Sci. 75: 412-435.
- and MENGERT, W. F. 1942. *Endocrine studies on human hermaphrodites*. J. Clin. Endocr. 2: 279-286.
- and OPITZ, J. M. 1963. *Fundamental aspects of Intersexuality*. Intersexuality pp. 16-34; ed. C. Overzier. Acad. Press, London and New York.
-

## LÉGENDES DES PLANCHES I ET II

## FIG. 1.

Cross section through right testis and mesonephric body of male pseudohermaphrodite, fetus 56 mm TA1;  $\times 43$ .

## FIG. 2.

Cross section through right testis and mesonephric body of control male fetus TAb22, 56 mm.  $\times 43$ .

## FIG. 3.

Enlarged detail from cross section through testis of male pseudohermaphrodite TA1; parts of three seminal tubules;  $\times 440$ .

## FIG. 4.

Enlarged detail from cross section through testis of control male TAb22, with cross section of one seminal tubule and coiled part of another;  $\times 440$ .

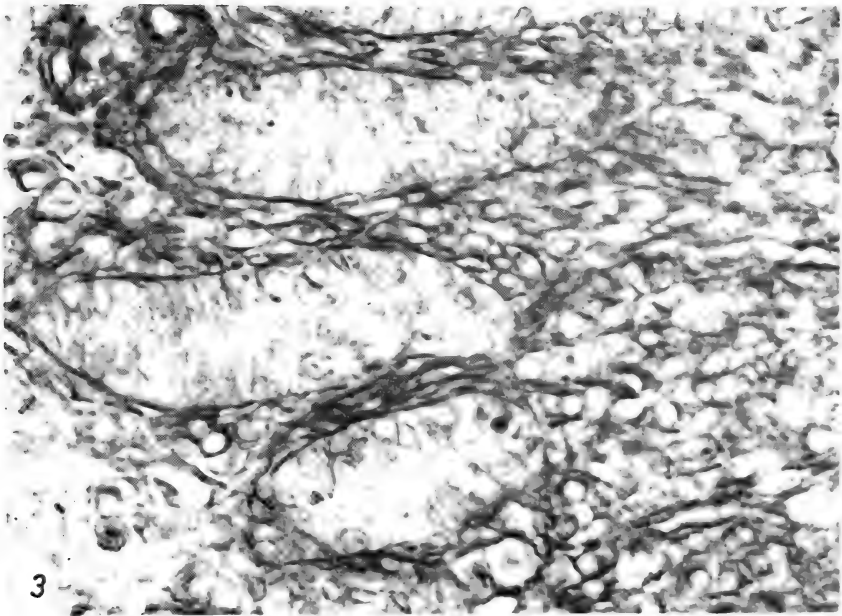
## FIG. 5.

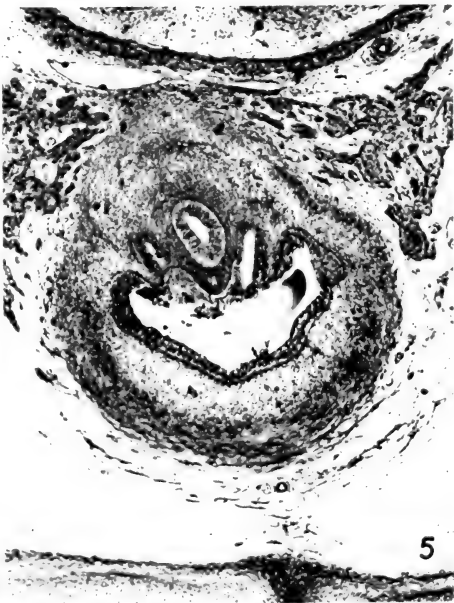
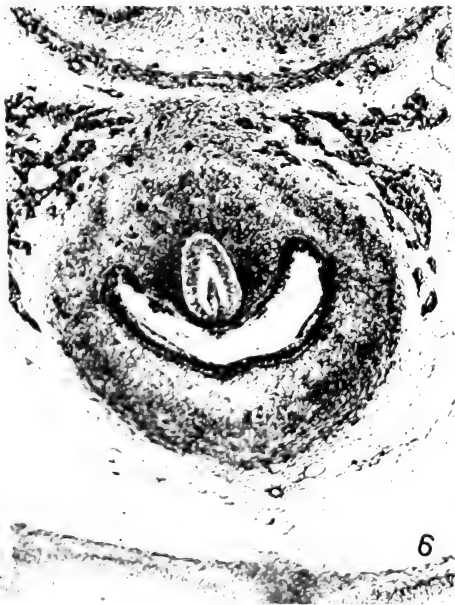
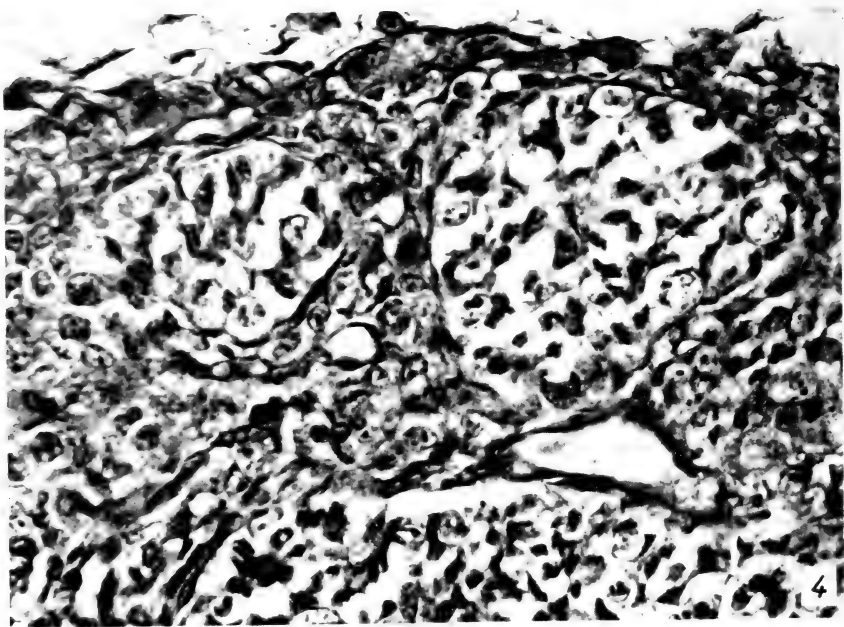
Cross Section through urogenital sinus and genital tubercle at the level of orifices of the mesonephric ducts; cross sectioned vaginal rudiment; TA1;  $\times 60$ .

## FIG. 6.

As figure 5, near lower end of the rudiment of the vagina.

---





# Einige ungewöhnliche Lokomotionsweisen bei Säugetieren

von

**H. und K. HEDIGER-ZURBUCHEN**

Zürich

Mit 9 Textabbildungen.

Vielen Tieren stehen verschiedene Lokomotionsweisen zur Verfügung, die sich nicht nur dem Grade, also der Schnelligkeit, sondern dem Wesen nach unterscheiden. Der Übergang von der einen zur anderen bedarf einer besonderen, neurologisch zweifellos hochkomplizierten Schaltung und entspricht der jeweiligen Situation.

Grundsätzlich lässt sich sagen, dass die wirksamste Lokomotionsweise, also die schnellste Gangart, über die ein Tier verfügt, immer der Flucht reserviert bleibt, in zweiter Linie (bei Raubtieren) der Endphase beim Überfallen der Beute. Diese Priorität der Flucht findet sich bereits bei zahlreichen Wirbellosen, z. B. als sogenannte vertikale Undulation beim Regenwurm, als Überschwimmen der Seesterne bei Pecten, als „Rückwärtskriechen“ bei dekapoden Langschwanzkrebse, als Trichterrückstoss von Octopus etc.

Das bipede Hüpfen (Laufen), eine äusserst wirksame Fortbewegungsart, kommt unter Tetrapoden in reiner Form, d. h. unter Ausschaltung der Vorderextremitäten wohl erst bei gewissen Reptilien (Agamiden, Varaniden etc.) vor. Unter Säugetieren ist es nur bei einigen Primaten, Nagern und Insektivoren und ihren marsupialen Entsprechungen anzutreffen, ferner beim Erdferkel

(Orycteropus); es fehlt bezeichnenderweise den Raubtieren mit der möglichen Ausnahme des tasmanischen Beutelwolves (Thylacinus) Abb. 1, der in seltenen Fällen auf der Flucht zu bipedem Hüpfen nach Känguruhart Abb. 2 übergehen soll (HEDIGER 1958, S. 14). — „Most animals make use of their jumping powers to get out of the danger quickly“, stellt auch J. GRAY (1935, S. 72) fest.

ABB. 1.

Hypothetische Darstellung des Hüpfens  
bei Thylacinus auf der Flucht.

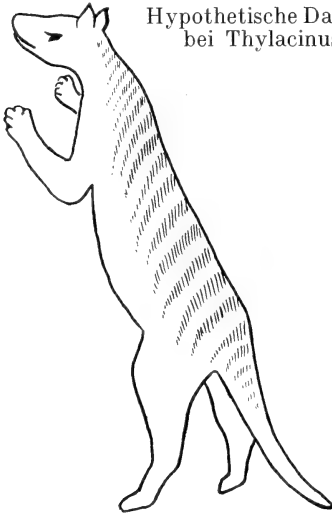


ABB. 2.

Macropus auf der Flucht bei  
maximalen Sprüngen (bis  
12 m). Nach einer Foto  
gezeichnet.

So wie man — allzu konservativ — in der Systematik bzw. in der biologischen Anatomie bestimmte Zahn- und Gebissformen einer bestimmten Ernährungsweise zuzuordnen pflegte, hat man lange Zeit auch bestimmte Extremitätenformen bestimmten Lokomotionsarten zugeordnet. In Wirklichkeit sind jedoch diese Beziehungen weit weniger starr, sondern viel plastischer, als man meistens annimmt.

So gilt z. B. der Bär als typischer Sohlengänger und als solcher unfähig, zu springen. H. BÖKER (1935, S. 124) rechnet ihn zu den charakteristischen Schreitern, wie etwa den Igel. In vielen Zoologischen Gärten hat man diese Auffassung in mehr oder weniger riskierten Rampenbauten und Freianlagen praktisch verwertet. Gewiss springt der Bär vom Braunbären-Typus und seinen Verwandten normalerweise nicht; in aussergewöhnlichen Situationen,



in Erregungszuständen, aber kann er es in einem erstaunlichen Ausmass. Wer jedes Risiko ausschliessen will, hält Bären hinter 5 m hohen senkrechten glatten Betonmauern, wenn auf ein Deckengitter verzichtet werden soll.

In aussergewöhnlichen Situationen kann es vorkommen, dass ein zweiter Bär an einem an der Absperrwand aufgerichteten Bären hochklettert. In Zoologischen Gärten ist auch mit umstürzenden Kletterbäumen und überraschenden Schneefällen zu rechnen. In einem kanadischen Zoo gelang es einem aus dem Zürcher Zoo stammenden Bären, grosse Schneemengen festzutreten, sodass sich die Mauerhöhe effektiv verringerte und ein Aussteigen gestattete. Das ausgerückte Tier wurde von der Polizei abgeschossen.

Hier geht es indessen nicht um tiergartentechnische Rezepte, sondern um biologische Betrachtungen. Der Eisbär steht dem Braunbären so nahe, dass sich die beiden bastardieren und die Bastarde weiterzüchten lassen. Der Farbunterschied und die ungleichen Biotope dieser beiden „Sohlgänger“ täuschen eine verwandtschaftliche Entfernung vor, die nicht existiert. Der Eisbär ist ein geradezu hervorragender Springer und im Wasser kann er Lokomotionsweisen an den Tag legen, die bisher nur selten zur Beobachtung gelangt sind.

Eine derartige Überraschung erlebten wir im Zürcher Zoo am 2. 4. 58. Das gleichzeitig dem Schwimmen und der gitterlosen Absperrung dienende Bassin von 14,7 m Länge und einer Wassertiefe von 2,3 m verursachte bei jeder Reinigung und Wiedereinfüllung aus dem städtischen Wassernetz bedeutende Kosten. Es wurde daher nach einer Möglichkeit gesucht, das beträchtliche Wasservolumen zu reduzieren und zwar durch eine Verringerung der Bassintiefe (Auffüllen des Bassinbodens). Glücklicherweise kam es vor diesem Umbau zur folgenden Überraschung, welche zur Aufgabe des Planes führte.

In einem an die Eisbärenanlage angrenzenden Gitterkäfig, dessen unterer Rand 2,7 m über dem Niveau des 2,3 m tiefen Bassins war, brachten wir einen jungen Braunbären unter. Diese ungewohnte Erscheinung in seiner unmittelbaren Nachbarschaft brachte den männlichen Eisbären in eine derartige Aufregung, dass er mit allen Mitteln versuchte, den Braumbären zu erreichen.

Eine Methode bestand darin, dass er im Wasser vom linken, d. h. 14,7 m entfernten Bassinrand startend, in einer delphinartigen

Schwimmweise (vertikal undulierend) gegen die gegenüberliegende vertikale Bassinwand sauste, und an dieser — ohne am Basingrund abzustossen! — 2,6 m weit in die Höhe schoss, also bis 10 cm unter den Boden des Braunbärenkäfigs, Abb. 3, 4. Durch direkte Beo-

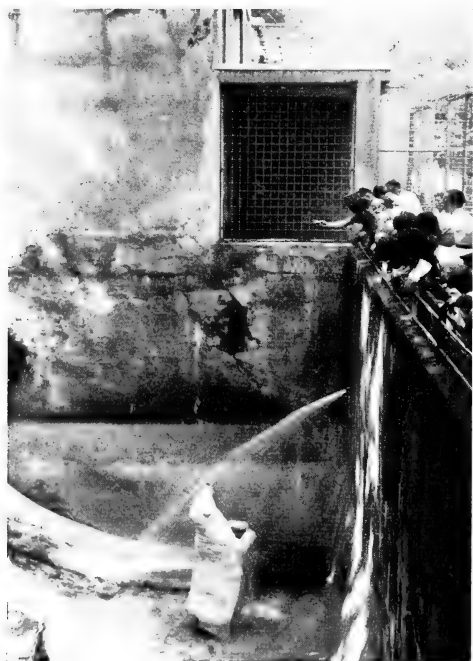


Abb. 3.

Der Eisbär in dem fast völlig entleerten Bassin stehend. Das Niveau des gefüllten Bassins, 2,3 m. über dem Boden, ist deutlich zu sehen, ebenso der Braunbärenkäfig, 2,7 m hoch über der Wasserlinie und links daneben die vom Eisbären an der Mauer hinterlassen Spuren vom Springen vom Felsen aus.

bachtung und Markierung der Krallenspuren konnte das einwandfrei festgestellt werden. Nach I. KRUMBIEGEL (1954, S. 82) kann ein Eisbär zwar bis 4 m weit springen, aus dem Wasser aber nur  $1\frac{1}{2}$  m weit aufwärtsschnellen. Die delphinartige Fortbewegung des Eisbären im freien Wasser war für uns gänzlich neu.

Vielleicht sind aber überhaupt noch nicht alle Schwimm-Methoden dieses riesigen Raubtieres bekannt. Nach F. BOURLIÈRE (1954, S. 3) sind unsere Kenntnisse über die Lokomotion der Säuge-

tiere noch besonders dürftig. 1962 haben M. SCHEIN und F. M. HART (S. 164) an freilebenden Eisbären, welche sie vom Motorboot aus beobachteten und verfolgten, folgende Schwimm-Methode festgestellt: „Only the front paws are used to paddle, while the hind paws extend rigidly behind and act as a rudder. However in making a sudden turnabout, the bear rears up by paddling all four legs, and then sets off anew. Of interest was this bear's peculiar habit of

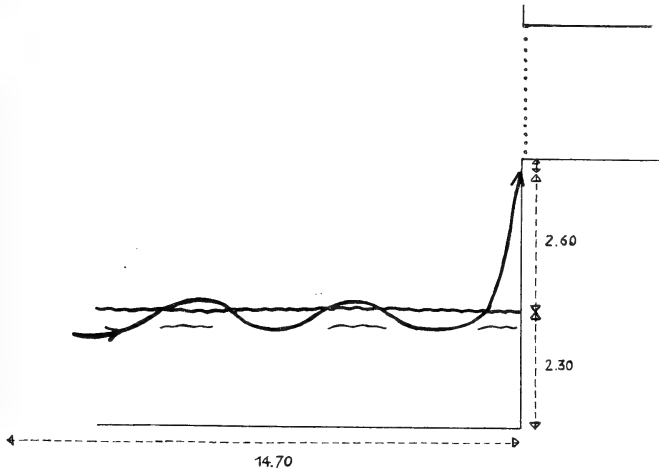


ABB. 4.

Schematische Darstellung des delphinartigen Schwimmens des aufgeregten Eisbären und seines 2,6 m über die Wasseroberfläche reichenden Sprunges aus dem Wasser ohne Abstoßen auf dem Basingrund.

diving every few minutes or so while swimming, as if the diving were part of its escape mechanism.“

Es werden also vom Eisbären bei der Fortbewegung im Wasser entweder alle vier oder nur die vorderen oder gar keine Extremitäten eingesetzt. In den Zoos, wo meist nur beschränkte Möglichkeiten zur Verfügung stehen, kommt es offenbar nicht oder nur selten zur Entfaltung aller Schwimm-Methoden.

Nachdem das überraschende Delphin-Schwimmen im erwähnten Falle doch nicht ganz zum Ziel — dem aufgeregden Braunbären — geführt hat, verlegte sich der Eisbär auf eine andere Methode, nämlich aufs Springen, und zwar aufs Springen von einem Felsen

aus, der sich 3,1 m über dem Wasser befand, in einem Winkel von ca.  $45^\circ$  nach oben. Dass Eisbären im Freien von schwimmenden Eisbergen ins Meer oder im Zoo von erhöhten Felsen ins wassergefüllte Bassin hinunterspringen, ist unzählige Male beobachtet worden. Dass sie aber von einem festen Startpunkt aus schräg nach oben springen, ist ungewöhnlich und zwar in unserem Falle zweifellos durch die Erregung bedingt, welche die Nachbarschaft des jungen Braunbären hervorgerufen hatte. Der schräg nach oben



Abb. 5.

Von der Felsplatte links sprang der Eisbär in einem Winkel vom ca.  $45^\circ$  in Richtung nach dem Braunbärenkäfig.

gerichtete Sprung hinterliess an der Wand Krallenspuren in 1,7 m Höhe über dem Startpunkt; diese Spuren lagen somit 4,8 m über dem Wasser, in welches der Eisbär, nachdem er den aufreizenden Braunbären verfehlt hatte, hinunterfiel.

Die Abb. 5 und 6 veranschaulichen deutlich das geschilderte Verhalten in der entsprechenden Situation. Was Eisbären können, ist den Braunbären zum mindesten nicht völlig fremd. So springen aufgerichtete Braunbären z. B. im Spiel oder beim Betteln mit Leichtigkeit aus dem Stand 50 cm senkrecht in die Höhe. In aussergewöhnlichen Aufregungszuständen sind sie aber zweifellos in der Lage, viel höher zu springen (vgl. HEDIGER 1950, S. 53).

In diesem Zusammenhang drängt sich ein Vergleich mit dem marsupialen Analogon des „plumpen“ Braunbären auf, nämlich mit dem Beutelbären (*Phascolarctus cinereus*). Dieser ist ja ein

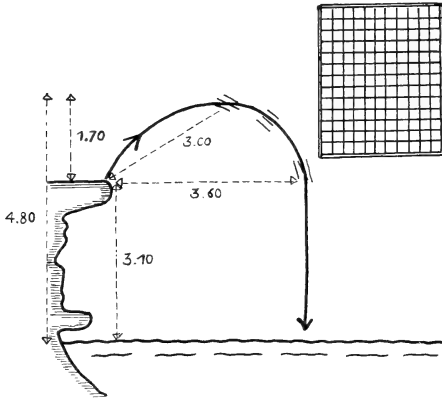


ABB. 6.

Schematische Darstellung des Eisbären-Sprunges von der Felsplatte mit Massangaben in Metern.

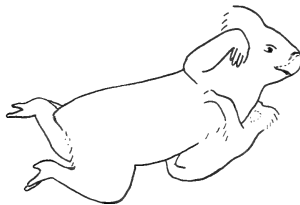


ABB. 7.

Springender Koala (*Phascolarctus cinereus*) nach einer Filmaufnahme gezeichnet. Trotz seinem scheinbar plumpen Bären-Habitus ist der Beutelbär in der Lage, bedeutende Sprünge von Baum zu Baum auszuführen, selbst bei Belastung durch ein am Bauch angeklammertes Jungtier.

ausgesprochenes Baumentier, also ein ausgezeichnete Kletterer selbst auf den glattrindigen Eukalyptusbäumen; aber dieser Beutler mit dem vermeintlich schwerfälligen Bärenhabitus ist sogar in der Lage, geradezu unwahrscheinliche horizontale Sprünge von einem Mehrfachen seiner Körperlänge von Baum zu Baum auszuführen. Das wird nur selten beobachtet und noch seltener gefilmt. Nach einer solchen Aufnahme wurde Abb. 7 gezeichnet. Dabei ist bemer-

kenswert, dass dieses geradezu fliegende Exemplar noch mit einem Jungen beschwert war, welches das Beutelstadium bereits hinter sich hatte und am Bauch der springenden Mutter angeklammert war.



Abb. 8.

Melursus ursinus am horizontalen Deckengitter  
nach Faultierart hängekletternd.

Zoo-Erfahrungen führen immer wieder zur Erkenntnis, dass viele Tiere in ihrer Leistungsfähigkeit unterschätzt werden. Das gilt z. B. auch für den indischen Lippenbären (*Melursus ursinus*), der sich nicht nur an senkrechten Baumstämmen oder Gittern, sondern auch an horizontalen faultierartig fortzubewegen versteht. Auch diese ungewöhnliche Lokomotionsweise konnten wir im Zürcher Zoo beobachten und fotografisch — wenn auch nur unvollkommen — festhalten (Abb. 8).

Bemerkenswerterweise wurde diese seltsame Bärenart, die übrigens als einzige ihre Jungen auf dem Rücken trägt, ursprünglich als ein riesiges Faultier beschrieben. Auch die heutigen Bezeich-

nungen in der englischen (Sloth bear) und in der französischen Sprache (*ours paresseux*) nehmen auf diesen Faultiercharakter Bezug, d. h. auf die Fähigkeit, sich nach Faultierart unten an horizontalen Trägern hängekletternd fortzubewegen. In dem erwähnten, der Eisbärenanlage benachbarten Gitterkäfig, waren wir oft Zeuge dieser ungewöhnlichen Lokomotionsweise.

Das sogenannte Hängeklettern kommt also nicht nur bei den von H. BÖKER (1935, S. 84) aufgezählten und bei „keinem anderen Säugetier“ vor, sondern gelegentlich auch beim Lippenbären.

Eine grosse und freudige Überraschung bezüglich einer ungewöhnlichen Lokomotionsweise bereiteten uns im Zürcher Zoo seit 1956 in mehreren aufeinanderfolgenden Jahren die kanadischen Biber (*Castor canadensis*), die sich auch 1963 wieder fortgepflanzt haben. Jedesmal boten sie uns Gelegenheit zu demonstrieren, dass sie ihre Jungen tatsächlich auf den Händen tragen, was bis vor kurzem als unmöglich zurückgewiesen worden war.

Nur die ausserordentliche Zähmheit unserer Biber, die zu einer ungenierten Entfaltung ihre Tätigkeiten auch am hellichten Tage führte, gestattete uns, diese eigenartige Transport- und Lokomotionsmethode zu beobachten.

Nicht nur beide Eltern, sondern auch die älteren Geschwister der vier- bis ca. sechzig Tage alten Jungen hatten offenbar das Empfinden, dass diese zu lange im Wasser schwammen. Sie verfolgten dann die kleinen Schwimmer im Bassin und fassten sie mit ihren mächtigen Nagezähnen an der Flanke, welcher Griff sie sofort bewegungslos zu machen schien. So wurden die Kleinen an der Oberfläche (manchmal auch etwas darunter) bis zur günstigsten Ausstiegstelle gestossen. Hier wurden die Jungbiber mit den Vorderarmen unterfangen, hochgehoben und von ihren älteren Familienmitgliedern in bipeder, anatidenhafter Gangart ins Nest, d. h. in die künstliche Biberburg zurückgetragen (Abb. 9).

Oft wurde in dieser eigenartigen Haltung eine Strecke von mehreren Metern sogar auf ansteigenden Felsen zurückgelegt.

Auch kam es dann vor, dass die im Nest abgestellten Jungen hinter ihren Trägern — sobald diese sich umgedreht hatten — erneut ins Wasser strebten. In einigen Fällen setzten sich die Jungen sogar auf den breiten Schwanz ihrer Eltern oder älteren Geschwister und legten auf diese Weise, wie auf einem Schlitten, einen Teil der Strecke zum Wasser zurück.

Die bipede Gangart ausgewachsener Biber wird gelegentlich auch beim Transport von Baumaterial (Äste, Erdklumpen, Steine) angewandt. Hingegen gehört das Transportieren solchen Materials



ABB. 9.

Biber-Mutter im Zürcher Zoo mit ca. 1 Monat altem Jungen auf den Armen in bipeder Gangart auf dem Weg vom Bassin zum Nest gehend (Foto Jürg Klages 13. Juni 1957).

auf der Kelle, wie das früher angenommen und z. B. in SETON THOMPSON's Werk (1953, Vol. 4, Part. 2 5-455) nach einer alten Zeichnung aus dem Jahre 1715 dargestellt wurde, ins Reich der Fabel.

## ZUSAMMENFASSUNG

Der Flucht vor dem Feind bleibt die wirksamste Fortbewegungsweise reserviert, falls mehrere Lokomotionstypen zur Verfügung stehen. Bipedes Hüpfen fehlt Raubtieren. Ein Eisbär im Zürcher Zoo zeigte ein delphinartiges vertikales Bogenschwimmen mit einem 2,6 m hohen Sprung aus dem Wasser. Bären vom Braunbären-Typ vermögen in Aufregungszuständen mehr als 50 cm senkrecht in die Höhe zu springen. Melursus kann an horizontalen Gittern hängend klettern. Kanadische Biber tragen ihre Jungen auf den Händen, biped gehend.



## SUMMARY

*Some unusual types of locomotion in mammals.*

When an animal possesses different types of locomotion the most effective is reserved for the flight reaction from its enemies. Bipedal jumping is not observed in predators. A Polar Bear of the Zurich Zoo displayed a peculiar porpoise-like swimming in vertical curves, with a 6'7" jump out of the water. Bears of the Ursus-Type are able to jump at least 1'8" vertically. Melursus was occasionally observed climbing along the under side of a horizontal wire-netting in a sloth-like manner. Canadian Beavers carry their young on their hands walking on their hind legs like a duck.

## RÉSUMÉ

Lorsqu'un animal dispose de plusieurs types de locomotion, le plus efficace est réservé à la fuite devant l'ennemi. Les carnivores ignorent le saut bipède. Un ours blanc du zoo de Zurich nageait à la manière des dauphins, terminant sa nage verticale ondulante par un saut de 2,6 m hors de l'eau. Les ours bruns en état d'excitation sont capables d'effectuer des sauts verticaux de 50 cm. Parfois *Melursus* s'accroche au toit grillagé de sa cage comme un paresseux. Le castor canadien porte ses jeunes dans ses mains en se déplaçant à l'aide des seuls membres postérieurs.

## LITERATUR

- BÖKER, H. 1935, *Einführung in die Vergleichende biologische Anatomie der Wirbeltiere*. Bd. 1.  
BOURLIÈRE, F. 1954. *The Natural History of Mammals*. A. A. Knopf, New York.  
GRAY, J. 1953. *How Animals Move*. Cambridge Univ. Press.  
HEDIGER, H. 1950. *Wild Animals in Captivity. An Outline of the Biology of Zoological Gardens*. Butterworth, London.

- HEDIGER, H. 1958. *Verhalten der Beuteltiere*. Handb. Zool. Bd. 8, Liefg. 18.
- KRUMBIEGEL, I. 1954. *Biologie der Säugetiere*. Agis, Krefeld.
- SCHEIN, M. and HART, F. M. 1962. *A Close Look at the Polar Bears*. Animal Kingdom Vol. 55, Nr. 6.
- THOMPSON SETON, E. 1953. *Lives of Game Animals*. Boston.
-

**Die folgenden Arbeiten, welche ebenfalls Herrn Prof. F. Baltzer zum 80. Geburtstag gewidmet sind, erscheinen an anderer Stelle:**

- DALCQ, A. M. (Bruxelles): *Recherches cytochimiques sur les enzymes de déphosphorylation dans les œufs fixés de rat et de souris*. J. Embryol. exp. Morph., 12 (1964).
- GEIGY, R. und AESCHLIMANN, A. (Basel): *Langfristige Beobachtungen über transovarielle Übertragung von Borrelia duttoni durch Ornithodoros moubata*. Acta tropica 21 (1964).
- VON HAHN, H. (Basel): *Age-dependent thermal denaturation and viscosity of crude and purified DNA prepared from bovine thymus*. Gerontologia (Basel) 8 (1963).
- HAMBURGER, V. (St. Louis/Mo.): *Some aspects of the embryology of behavior*. Quart. Rev. Biol. 38 (1963).
- HANHART, E. (Ascona): *Zur Erbbedingtheit des differenzierten und undifferenzierten Schwachsinn*. Arch. J. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. 38 (1963).
- KLEIN, D. (Genève): *Acquisitions récentes dans le domaine du dépistage de porteurs latents d'affections héréditaires*. Arch. J. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. 38 (1963).
- LEHMANN, F. E. und MEYER, V. (Bern): *Über definierte tumortolerante und tumorresistente CFN-Rattenstämme (Genetische und immunbiologische Probleme bei der Transplantation von Walker-256-Carcinosarkomen auf verschiedene homologe Wirte)*. Arch. J. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. 38 (1963).
- MATTHEY, R. (Lausanne): *Polymorphisme chromosomique intraspécifique et intraindividuel chez Acomys minous Bate (Mammalia-Rodentia-Muridae). Etude des hybrides A. minous ♂ × A. cahirinus Desm. ♀. Le mécanisme des fusions centriques*. Chromosoma 14 (1963).
- RIS, H. (Madison/Wis.): *The ultrastructure of genetic systems in prokaryotes and eukaryotes*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 28 (1963).
- ROSIN, S. (Bern): *Die statistische Erfassung exogener Fälle bei einfach rezessivem Erbgang mit Anwendung auf die rezessive Taubstummheit*. Arch. J. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. 38 (1963).
- ROTH, H. (Bern) und GEIGER, W. (Genf): *Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten der Bachforellenbrut in der Laichgrube*. Schweiz. Z. Hydrol. 25 (1964).
- WAGNER, G. (Bern): *Zum Brutverlauf beim Star*. Orn. Beob. 60 (1963).
- WATSON, I. D. and CALLAN, H. G. (St. Andrews): *The form of bivalent chromosomes in newt oocytes at first metaphase of meiosis*. Quart. J. micr. Sci. 104 (1963).

WEBER, R. (Bern): *Zur Aktivierung der Kathepsine im Schwanzgewebe von Xenopuslarven bei spontaner und „in vitro“ induzierter Rückbildung.* Helv. physiol. Acta. 22 (1964).

WEISS, P. and SCOTT, B. I. H. (New York): *Polarization of cell locomotion „in vitro“.* Proc. Natl. Acad. Sci (U.S.A.) 50 (1963).

Für die Herausgabe des Sonderheftes „Hommages à Fritz Baltzer“ sind wir folgenden Donatoren zu grossem Dank verpflichtet:

Revue suisse de Zoologie.

Dr. G. WANDER (Bern).

Naturforschende Gesellschaft in Bern.

Erziehungsdirektion des Kantons Bern.

---

Nº 12.	TSCHUMI, P. A. Die Evolution der Gliedmassen in entwicklungsphysiologischer Perspektive. Mit 5 Textabbildungen . . . . .	215-236
Nº 13.	MICHEL, Franz. Erste Ergebnisse vergleichender Messungen am Schädel des eiszeitlichen, in der Schweiz gefundenen Murmeltiers <i>Marmota marmota</i> . Mit 1 Textabbildung und 8 Diagrammen . . . . .	237-254
Nº 14.	FRY, W. Eine eigenartige Entwicklungsanomalie der Honigbiene ( <i>Apis mellifica</i> ). Mit 5 Textabbildungen . . . . .	255-266
Nº 15.	EAKIN, Richard M. Development of the third eye in the lizard <i>Sceloporus occidentalis</i> . With seven text figures . . . . .	267-286
Nº 16.	WITSCHI, Emil and Saylo MUNEMITSU. Fetal stage of a male pseudohermaphrodite. With 1 text figure and 2 plates . . . . .	287-298
Nº 17.	HEDIGER-ZURBUCHEN, H. und K. Einige ungewöhnliche Lokomotionsweisen bei Säugetieren. Mit 9 Textabbildungen . . . . .	299-310

PUBLICATIONS  
DU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

En vente chez GEORG & Cie, libraires à Genève.

CATALOGUE DES INVERTÉBRÉS DE LA SUISSE

Fasc. 1. SARCODINÉS par E. PENARD	Fr. 12.—
Fasc. 2. PHYLLOPODES par Th. STINGELIN	» 12.—
Fasc. 3. ARAIGNÉES par R. DE LESSERT	» 42.—
Fasc. 4. ISOPODES par J. CARL	» 8.—
Fasc. 5. PSEUDOSCORPIONS par R. DE LESSERT	» 5.50
Fasc. 6. INFUSOIRES par E. ANDRÉ	» 18.—
Fasc. 7. OLIGOCHÈTES par E. PIGUET et K. BRETSCHER	» 18.—
Fasc. 8. COPÉPODES par M. THIÉBAUD	» 18.—
Fasc. 9. OPILIONS par R. DE LESSERT	» 11.—
Fasc. 10. SCORPIONS par R. DE LESSERT	» 3.50
Fasc. 11. ROTATEURS par E.-F. WEBER et G. MONTET	» 38.—
Fasc. 12. DÉCAPODES par J. CARL	» 11.—
Fasc. 13. ACANTHOCEPHALES par E. ANDRÉ	» 11.—
Fasc. 14. GASTÉROTRICHES par G. MONTET	» 18.—
Fasc. 15. AMPHIPODES par J. CARL	» 12.—
Fasc. 16. HIRUDINÉES, BRANCHIOBELLES et POLYCHÈTES par E. ANDRÉ	» 17.50
Fasc. 17. CESTODES par O. FUHRMANN	» 30.—
Fasc. 18. GASTÉROPODES par G. MERMOD	» 68.—

LES OISEAUX DU PORT DE GENÈVE EN HIVER

par F. DE SCHAECK

Avec 46 figures dans le texte. Fr. 6.—

En vente au Muséum d'Histoire naturelle de Genève.

CATALOGUE ILLUSTRÉ DE LA COLLECTION LAMARCK  
APPARTENANT AU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

1<sup>re</sup> partie. — FOSSILES — 1 vol. 4<sup>o</sup> avec 117 planches. Fr. 300.—

COLLEMBOLENFAUNA EUROPAS von H. GISIN

312 Seiten, 554 Abbildungen Fr. 24.—

596.5494  
SD  
Tome 71

Fascicule 2 (Nos 18-23)

Mai 1964

# REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

ANNALES

DE LA

SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

ET DU

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

MAURICE BEDOT

fondateur

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

EMILE DOTTRENS

Directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève

AVEC LA COLLABORATION DE

HERMANN GISIN

Conservateur des arthropodes

et

EUGÈNE BINDER

Conservateur des invertébrés

---

GENÈVE

IMPRIMERIE KUNDIG

1964



# REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

Tome 71. En cours de publication.

	Pages
LEHMANN, F. E. Die Arbeiten F. Baltzers in der Dekade 1950-1960 als Wegweiser zur Problematik des genetisch-entwicklungsphysiologischen Evolutionsgeschehens. Geleitworte des Zoologischen Instituts der Universität Bern zum 12. März 1964, dem 80. Geburtstag von Prof. F. Baltzer . . . . .	1-8
HUBER, W. und P. A. TSCHUMI. Verzeichnis der Publikationen von F. Baltzer . . . . .	9-20
N° 1. RUNNSTRÖM, John, Sven HÖRSTADIUS, Janis IMMERS and Molly FUDGE-MASTRANGELO. An analysis of the role of sulfate in the embryonic differentiation of the sea urchin ( <i>Paracentrotus lividus</i> ). With 17 text figures . . . . .	21-54
N° 2. BRACHET, J. Nouvelles observations sur les hybrides létaux entre Batraciens et entre Echinodermes . . . . .	55-74
N° 3. WOLFF, Etienne, Théodore LENDER et Catherine ZILLER-SENGEL. Le rôle de facteurs auto-inhibiteurs dans la régénération des Planaires (Une interprétation nouvelle de la théorie des gradients physiologiques de Child). Avec 14 figures dans le texte . . . . .	75-98
N° 4. HADORN, Ernst. Bedeutungseigene und bedeutungsfremde Entwicklungsleistungen proliferierender Primordien von <i>Drosophila</i> nach Dauerkultur in vivo. Mit 6 Textabbildungen . . . . .	99-116
N° 5. TIEDEMANN, Hildegard und Heinz TIEDEMANN. Das Induktionsvermögen gereinigter Induktionsfaktoren im Kombinationsversuch. Mit 6 Textabbildungen . . . . .	117-138
N° 6. TOIVONEN, Sulo, Tapani VAINIO and Lauri SAXÉN. The Effect of Actinomycin D on Primary Embryonic Induction. With 4 text figures . . . . .	139-146
N° 7. CHEN, P. S. und A. FISCHER. Zur Entwicklung der xenoplastischen Augenchimären. Mit 13 Textabbildungen . . . . .	147-166
N° 8. TARDENT, Pierre. Der Sauerstoff-Verbrauch normaler und regenerierender Hydrocauli von <i>Tubularia</i> . Mit 4 Diagrammen . . . . .	167-182
N° 9. LÜSCHER, M. und M. WYSS-HUBER. Die Adenosin-Nukleotide im Fettkörper des adulten Weibchens von <i>Leucophaea maderae</i> im Laufe des Sexualzyklus. Mit 1 Diagramm . . . . .	183-194
N° 10. NOWINSKI, Wiktor W. and William C. MAHAFFEY. Oxidative Phosphorylation in Liver of Poikilothermic Animals ( <i>Rana pipiens</i> ) . . . . .	195-202
N° 11. REVERBERI, C. Data concerning the relative distribution of two varieties of <i>Discoglossus pictus</i> in Sicily ( <i>Amphibia</i> ) . . . . .	203-214

(Voir suite page 3 de la couverture)

## Prix de l'abonnement :

Suisse Fr. 75 —

Union postale Fr. 80.—

(en francs suisses)

Les demandes d'abonnement doivent être adressées à la rédaction de la Revue Suisse de Zoologie, Muséum d'Histoire naturelle, Genève



# Etude écologique et statistique de la faune terrestre d'une caverne du Jura Suisse au cours d'une année d'observation<sup>1</sup>

par

**Jean-Pierre JÉQUIER**

Avec 12 figures, 5 planches et 2 plans hors texte

## TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION . . . . .	314
ORGANISATION DES RECHERCHES . . . . .	315
a) Capture des animaux cavernicoles . . . . .	315
b) Triage, comptage, détermination spécifique et conservation des animaux cavernicoles . . . . .	317
c) Recherches accessoires . . . . .	318
<i>Chapitre Premier: LA GROTTÉ DU CHAPEAU DE NAPOLEON . . .</i>	319
a) Découverte . . . . .	319
b) Situation géographique et géologique . . . . .	319
c) Topographie . . . . .	320
d) Remplissage . . . . .	321
e) Concrétions . . . . .	322
f) Mode de formation . . . . .	323
g) Facteurs variables du milieu souterrain . . . . .	323

<sup>1</sup> Travail ayant obtenu le Prix Louis Perrier de l'Université.

<i>Chapitre II: COMPOSITION DE LA FAUNE</i> . . . . .	327
a) Micro-organismes . . . . .	327
b) Invertébrés . . . . .	328
c) Vertébrés . . . . .	337
d) Commentaires et tableau récapitulatif . . . . .	339
<i>Chapitre III: ETUDE STATISTIQUE DE LA FAUNE TERRESTRE</i> .	341
A) Résultats des piégeages et des observations . . . . .	341
B) Interprétation des résultats . . . . .	341
a) Classement quantitatif des espèces récoltées . . . . .	341
b) Répartition topographique des différentes espèces . . . . .	343
c) Répartition chronologique . . . . .	347
d) Attirance sélective des appâts . . . . .	359
<i>Chapitre IV: DESCRIPTION DE LA LARVE DE ROYERELLA VILLARDI</i> SERMETI JEANNEL . . . . .	360
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS . . . . .	367
BIBLIOGRAPHIE SOMMAIRE . . . . .	368

« Il vaut mieux allumer une  
petite lanterne que de mau-  
dire les ténèbres. »

(Proverbe chinois)

## INTRODUCTION

La faune des cavernes, ou faune cavernicole, fait l'objet d'un nombre croissant de publications parallèlement au développement de la spéléologie. Toutefois, la plupart des auteurs ne s'attachent, faute de temps ou d'intérêt, qu'à des problèmes d'ordre systématique ou à de simples énumérations d'espèces. Notre intention dans ce travail est d'étudier la faune d'une grotte non seulement au point de vue qualitatif, ou statique, mais aussi d'en définir l'aspect dynamique éventuel au cours d'une période d'observation assez longue.

Le cadre dans lequel nos recherches se sont déroulées, a été choisi avant tout pour sa tranquillité. Difficile d'accès et peu connue, la *Grotte du Chapeau de Napoléon* est en effet l'une des rares grandes cavités du Val-de-Travers qui soit très peu visitée par les spéléologues. Certes, ce ne fut pas une sinécure pour nous de parcourir chaque semaine ses galeries boueuses à souhait, et dont nous ressortions chaque fois sales des pieds à la tête !

Il convient de remercier ici M. J.-G. Baer, notre professeur, qui nous a constamment encouragé tout en nous laissant la plus grande liberté quant au choix des méthodes et à l'orientation des recherches. Que MM. les docteurs V. Aellen et Cl. Besuchet, conservateurs au Muséum d'Histoire naturelle de Genève, soient aussi assurés de notre plus vive reconnaissance; leur aide empressée et toujours si cordiale nous fut très précieuse. Nous remercions également M. R. Gigon, bibliothécaire de la Société suisse de Spéléologie, qui a facilité nos recherches bibliographiques, de même que nos collègues de la section de Spéléologie du Val-de-Travers pour leur dévouement spontané lors de l'aménagement de la galerie d'accès. Merci enfin à MM. A. Adam et Cl. Binggeli, auxquels nous devons les photographies d'animaux cavernicoles accompagnant ce travail.

## ORGANISATION DES RECHERCHES

Afin que nos piégeages et nos observations en général soient valables au point de vue statistique, il fallait les effectuer du début à la fin des recherches dans des conditions rigoureusement identiques. Nous nous sommes donc fixés une fois pour toutes un mode de faire, en étant cependant d'emblée conscients du fait que notre choix n'était probablement pas le meilleur. L'expérience nous a permis par la suite de reconnaître certaines « maladresses initiales » (cf. p. 355) qui compliquent singulièrement l'interprétation des résultats. C'est la part du tâtonnement dans toute recherche à ses débuts !

### a) *Capture des animaux cavernicoles.*

*Pièges et appâts:* Pour des raisons d'ordre pratique (relevé rapide des pièges, nettoyage de ceux-ci, etc.) nous avons utilisé des pièges du type le plus simple, à savoir des récipients en matière plastique (« gobelets à yoghurt », diamètre: 70 mm, profondeur: 70 mm) enfoncés dans le sol jusqu'à ras bord, et au fond desquels sont déposés des appâts divers. Ces pièges étaient au nombre de 31, dont 30 répartis en 10 séries (série n° 1 à 10) de 3 pièges chacune, et un isolé (dit piège de contrôle, n° 0) près de l'entrée de la grotte dans la partie supérieure de la galerie d'accès (pour la topographie

de la grotte, cf. Chapitre I, p. 320). Les séries 1 à 8 furent disposées dans la galerie B, qui est facile à parcourir et particulièrement favorable au genre d'étude envisagée. La série 9 était, elle, placée dans le haut de la première salle, à l'entrée d'un petit boyau latéral communiquant indirectement avec la galerie d'accès, tandis que la série 10 se trouvait dans la galerie descendante peu avant la deuxième salle (cf. Plan II).

Durant mai et juin 1961, quelques piégeages de contrôle ont également été effectués dans la partie profonde du réseau (2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> salle). Leurs résultats, trop partiels, ne seront pas rapportés dans ce travail.

Les 3 pièges de chaque série étaient disposés à environ 50 cm les uns des autres. Ils différaient entre eux par l'appât qu'ils contenaient, constitué ou d'un quartier de pomme, ou d'un petit bout de viande fraîche, ou encore d'un morceau de fromage. Le renouvellement des appâts se déroulait de la façon suivante: viande: tous les 15 jours; pomme et fromage: toutes les 4 semaines. A chaque renouvellement les pièges étaient, s'il y avait lieu, nettoyés au moyen d'un chiffon sec.

Le numéro d'ordre complet d'un piège est composé du numéro de la série à laquelle il appartient, suivi du numéro du piège à l'intérieur de cette série, chiffre rappelant la nature de l'appât utilisé soit: 1 = pomme, 2 = viande et 3 = fromage. Le numéro *91* signifie ainsi: *série 9 piège 1* (où l'appât est constitué de pomme). Le piège isolé (n° 0) de la galerie d'accès pour lequel nous avons toujours utilisé de la viande, sera désigné par le numéro *02*, etc.

*Relevé des pièges:* Ils furent régulièrement hebdomadaires au cours d'une année entière. L'opération consistant à recueillir les animaux tombés dans les pièges a été considérablement facilitée par l'emploi d'un « aspirateur » ad-hoc confectionné par nos soins (cf. fig. 1). Les proies aspirées au moyen de cet appareil tombent directement dans les tubes en verre à demi remplis d'alcool à 80 degrés, destinés à leur transport en laboratoire. A chaque piège correspond un tube, reconnaissable au numéro d'ordre complet porté par le bouchon de liège.

Seuls les animaux se trouvant à l'intérieur des pièges ont été recueillis systématiquement. Ceux, parfois nombreux, observés à proximité, n'ont fait l'objet de captures que lorsqu'il s'agissait de formes rares. Ces captures exceptionnelles sont alors affectées du

numéro de la série de piège la plus proche (= numéro de la zone ou région), suivi du chiffre 4. — 04 est employé par exemple pour les animaux récoltés à proximité du piège 02, dans la galerie d'accès.

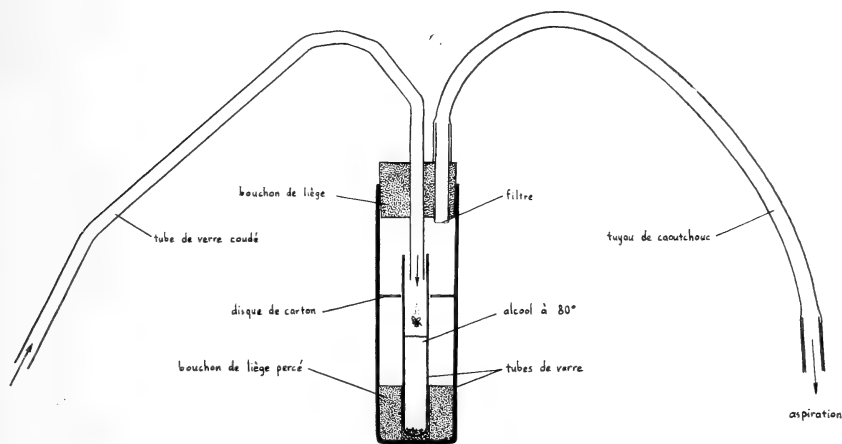


FIG. 1.

Aspirateur à insectes, coupe longitudinale.

Notons encore ici que l'utilisation d'un « aspirateur » pour le relevé des pièges du type décrit plus haut, est absolument indispensable. La récolte doit en effet s'effectuer très rapidement, certaines espèces (Collemboles, Diptères) parvenant à s'enfuir des pièges et le faisant à la moindre alerte. Un simple déplacement d'air causé par le passage rapide de la main à 30 cm au-dessus du piège, suffit ainsi à semer l'émoi parmi les Collemboles qui s'y trouvent et à en provoquer la dispersion rapide.

b) *Triage, comptage, détermination spécifique et conservation des animaux cavernicoles.*

En laboratoire, le matériel recueilli au cours des visites hebdomadaires subit un tri permettant de séparer les différentes espèces. Les espèces fréquentes sont, après comptage, réunies dans des tubes communs (un tube par espèce et par visite) portant uniquement le numéro de la visite. Les formes rares sont conservées séparément, dans des tubes munis du numéro d'ordre complet du piège dont elles proviennent précédé du numéro de l'expédition. Cette numérotation permet de situer immédiatement le lieu exact et le moment d'une capture exceptionnelle. Dans un cahier préparé à

cet effet, sont consignés les résultats des différents comptages effectués au cours du tri.

La détermination spécifique des divers animaux capturés nous a été rendue possible par M. V. Aellen. Il a bien voulu, en effet, se charger de faire parvenir aux spécialistes respectifs un ou plusieurs exemplaires de chaque espèce récoltée. Sans son aide dévouée et désintéressée, nous n'aurions jamais pu présenter une liste aussi complète de la faune de la grotte.

Le matériel définitivement identifié est conservé dans de l'alcool à 80 degrés, et accompagné de la numérotation originale. Etant très abondant, il nous a permis de constituer deux collections types comprenant les espèces dont nous disposons de plusieurs exemplaires. L'une accompagne le présent travail et est destinée à l'Institut de Zoologie de l'Université de Neuchâtel (Prof. J.-G. Baer), l'autre sera donnée au Musée d'Histoire naturelle de la Chaux-de-Fonds selon un vœu de M. W. Matthey. Le reste, c'est-à-dire la plus grande partie du matériel, a été remise au CERB (Centre d'Etudes et de Recherches Biospéléologiques — Muséum d'Histoire naturelle de Genève).

#### c) *Recherches accessoires.*

Quelques recherches sortant du cadre fixé à notre travail, ont été entreprises sur le terrain et en laboratoire. Ce sont notamment des prélèvements d'eau en vue d'obtenir des renseignements sur les microorganismes du milieu aquatique, des essais de survie et d'élevage d'espèces troglobies et une étude des restes osseux de Vertébrés recueillis dans la grotte. Nous ne ferons plus loin, qu'en mentionner très brièvement les résultats essentiels.

Par contre, la description de la morphologie larvaire jusqu'ici inconnue d'un Coléoptère troglobie, justifie à elle seule un chapitre spécial (Chap. IV).

Enfin, il était tout à fait indispensable d'accorder quelque attention au milieu dans lequel nos recherches se sont déroulées, ne serait-ce que pour les situer aussi exactement que possible. Le chapitre I est ainsi entièrement consacré à l'étude et à la description détaillée de la Grotte du Chapeau de Napoléon.

## CHAPITRE PREMIER

## LA GROTTE DU CHAPEAU DE NAPOLEON

a) *Découverte.*

Bien que son entrée ait été probablement connue de plusieurs chasseurs et bûcherons, ce n'est qu'en 1953 que cette importante cavité fut systématiquement explorée et topographiée par une dizaine de membres de la Société suisse de Spéléologie (section Val-de-Travers). Ceux-ci devaient alors constater, au vu d'une inscription et de traces de pas sur l'argile, qu'un explorateur solitaire les y avait précédés au cours des années 1870-1880. Cependant, il semble que ce premier visiteur ait eu grande hâte de revoir la lumière du jour, car sa reconnaissance s'est limitée à la partie supérieure de la grotte, soit à la première salle et à 10 mètres environ de la galerie B où se trouvaient l'inscription et les ultimes traces de pas. C'est par conséquent une grotte en grande partie vierge que les spéléologues parcoururent en 1953, fait remarquable si l'on songe que son entrée se trouve, à vol d'oiseau, à moins d'un demi-kilomètre du village de Fleurier.

Nous n'avons trouvé dans la littérature aucune mention certaine de cette grotte antérieure à celles de BURGER (1959) et AUDÉTAT (1962). De façon très vague, QUARTIER-LA-TENTE (1895) signale l'existence d'une caverne « dont l'entrée est difficile et dangereuse, au pied du grand rocher (?), au-dessus du Pont de l'Areuse ». L'absence de plus amples détails ne nous permet toutefois pas de déterminer s'il s'agit effectivement de la grotte dite, aujourd'hui, du Chapeau de Napoléon.

b) *Situation géographique et géologique.*

L'entrée de la grotte est située sur le territoire communal de Saint-Sulpice/Ne, sur le versant nord de la montagne appelée Chapeau de Napoléon qui se dresse immédiatement à l'ouest de Fleurier. Elle s'ouvre au pied d'une falaise verticale d'une quinzaine de mètres de hauteur, à une altitude d'environ 910 m. Ses coordonnées rectangulaires sont approximativement: 195.150/533.950

(Carte Nationale de la Suisse, 1: 25.000, Feuille 1163 — Travers). On y accède soit par le haut, depuis la petite route qui mène au restaurant du Chapeau de Napoléon en descendant à travers la forêt en direction du Pont de la Roche, soit plus sûrement par le bas, en remontant le grand « châble » situé entre la carrière du Pont de la Roche et la ligne de fortifications.

Du point de vue géologique, la grotte se trouve sur le flanc sud de l'anticlinal Mont des Verrières-Trémalmont-Sommartel, fortement entamé dans cette région par la vaste boutonnière d'érosion régressive de l'Areuse qu'est le Cirque de Saint-Sulpice. Il ne semble pas qu'elle soit en relation directe ou lointaine avec l'important chevauchement Fleurier-Malmont qui se termine à quelque 500 m au sud-est sur le versant opposé du Chapeau de Napoléon (RICKENBACH, 1926). L'ensemble du réseau actuellement accessible est creusé dans les calcaires du Jurassique supérieur, en grande partie ou en totalité dans l'assise kimméridgienne.

### c) *Topographie.*

Les plans et coupes accompagnant ce travail (cf. Plans I et II) donnent une meilleure idée de la topographie de la grotte, qu'une longue et laborieuse description. Nous nous contenterons donc ici de la décrire à grands traits.

Dans sa partie supérieure, le réseau comprend une galerie fortement descendante, entrecoupée de ressauts sub-verticaux (Plan I), qui débouche à 40 m de l'entrée environ dans une salle déclive de vastes dimensions (1<sup>re</sup> salle). Cette galerie dite galerie d'accès, communique avec l'extérieur par un boyau (boyau d'entrée) très resserré et de moins d'un quart de m<sup>2</sup> de section dans sa partie la plus étroite. Sur la gauche de la première salle en entrant, s'ouvre une importante galerie (couloir B, Plan I), légèrement montante, sinueuse et jalonnée de nombreuses cheminées. Du côté opposé, au bas de la 1<sup>re</sup> salle, la grotte se poursuit en une large galerie descendante encombrée d'un chaos de gros blocs, jusqu'au haut d'une deuxième salle en forme de puits. De cet endroit, deux galeries distinctes, l'une supérieure, l'autre inférieure (respectivement 1<sup>er</sup> et 2<sup>e</sup> passages) permettent d'accéder dans une grande diaclase terminale ou 3<sup>e</sup> salle. A l'extrémité nord-ouest de celle-ci, un « trou souffleur » impénétrable à l'homme indique une continuation probablement importante du réseau dans cette direction.



Entre l'entrée et le point le plus bas de la grotte, la dénivellation est de 82 m environ, tandis que les longueurs additionnées des principales galeries atteignent au total 264 m.

Le domaine terrestre (nous entendons par là les surfaces jamais recouvertes d'eau) est de loin le plus important dans la Grotte du Chapeau de Napoléon (cf. Plan II). Quant au domaine aquatique, il comprend plusieurs flaques persistantes ou temporaires situées généralement au pied des cheminées, et un ruisseau qui prend source « per ascendum » au fond de la galerie B et alimenté par ailleurs par les gouttières des cheminées. En amont de la cheminée C4, l'eau du ruisseau s'infiltre sous un important cône d'éboulis pour réapparaître à l'air libre quelques mètres plus bas. Lors des périodes particulièrement humides, l'écoulement de l'eau à travers l'éboulis n'est pas suffisant et la partie terminale de la galerie B est partiellement inondée. De la 2<sup>e</sup> à la 3<sup>e</sup> salle, l'eau emprunte également une voie en partie inaccessible à l'homme. Elle est enfin entièrement absorbée dans la diaclase terminale par une perte en relation avec le « trou souffleur ».

#### d) *Remplissage.*

Il est possible de distinguer dans le remplissage de la grotte les 5 types suivants de sédiments:

- 1) humus;
- 2) éboulis;
- 3) argile de décalcification avec éléments calcaires nombreux;
- 4) argile de décalcification sans éléments grossiers;
- 5) sable et gravier fluvio-glaciaires.

Le Plan II montre la répartition de ces divers sédiments en surface. Partout où l'argile de décalcification existe, on a en général, de haut en bas, la succession ci-dessous:

- argile de décalcification (5-20 cm);
- sable fluvio-glaciaire (0 à plus de 150 cm);
- gravier fluvio-glaciaire (0 à quelques cm);
- radier rocheux plus ou moins fortement érodé.

Ce schéma est aussi valable pour les niches ou les replats des parois, même situés à plusieurs mètres du sol, et dans lesquels on

trouve presque toujours des petites poches de sable et de gravier recouvertes d'argile.

Le cône d'éboulis du couloir B est de formation relativement récente, bien qu'il ne soit plus alimenté actuellement. Il est constitué en majeure partie d'éléments de petites dimensions (1 à 3 cm de diamètre) formés par délitage du plafond très fissuré de la cheminée surplombante. Nous avons recueilli à cet endroit quelques fossiles de la roche encaissante, notamment des Brachiopodes du genre *Terebratula*, ainsi que des fragments de *Trichites*, Lamelli-branche caractéristique du Kimméridgien jurassien.

e) *Concrétions.*

La grotte ne recèle que très peu de stalactites ou stalagmites vivantes, c'est-à-dire en voie de croissance. De plus, les rares exemplaires existants ne dépassent jamais quelques centimètres de longueur. Des restes de grosses stalagmites au pied des cheminées C<sub>3</sub> et C<sub>4</sub> indiquent toutefois l'existence dans le passé de conditions plus favorables à ce genre de formations.

Les concrétions molles du type « mond-milch » (= berg-milch, lait de lune ou lait de caverne) sont par contre abondantes surtout dans les cheminées et à leurs abords immédiats (cf. Plan II, Pl. III). Elles s'y présentent sous forme d'une matière onctueuse, gorgée d'eau, de couleur blanche, jaune ou brune, appliquée contre les parois en couches de quelques millimètres à plusieurs centimètres d'épaisseur, ou constituant de véritables draperies.

Le mond-milch contient tous les éléments chimiques du substrat sur lequel il s'est formé, ainsi que des matières organiques diverses, contrairement donc aux stalactites et stalagmites qui n'en offrent jamais de traces dosables. A l'examen minéralogique, il se révèle être une suspension dans un milieu complexe, essentiellement colloïdal, de minuscules bâtonnets de calcite et d'autres minéraux. On constate en outre au point de vue microbiologique, à côté d'une micro-flore variée, la présence constante d'une ferrobactériale, le *Parabacterium spelei* (cf. CAUMARTIN et RENAULT, 1958). A la suite de leurs recherches, les auteurs cités sont parvenus à la conclusion que le mond-milch était le résultat d'une corrosion bio-chimique des calcaires du milieu souterrain, et qu'ainsi il différait profondément des concrétions dures (stalactites, stalagmites) dont la genèse est purement physico-chimique.

f) *Mode de formation.*

Le Plan I montre à l'évidence que la cavité s'est formée aux dépens d'un système de fentes présentant deux directions préférentielles approximativement perpendiculaires entre elles. L'une, la direction sud-ouest/nord-est, correspond aux joints de strates du massif, l'autre à des diaclases orientées par conséquent dans le plan sud-est/nord-ouest.

A la phase de corrosion chimique initiale, une fois les fentes originelles suffisamment élargies pour permettre une circulation d'eau filonienne, a succédé une phase de creusement mécanique intense attestée par les dépôts de sable et de galets, et les traces très nettes d'érosion (stries, poli) subsistant en certains endroits du soubassement rocheux, du plafond et des parois. Puis, le régime torrentiel ayant diminué et finalement presque cessé d'exister, les phénomènes de dissolution reprirent le dessus. C'est ainsi qu'aujourd'hui, on se trouve en présence d'un réseau sénile en voie de transformation profonde sous l'effet conjugué de phénomènes physico- et bio-chimiques.

Le fait que les alluvions déposées dans toute la grotte contiennent de très nombreux éléments erratiques (jusqu'à 10% du total à certains endroits !), indique qu'elles sont constituées en grande partie, sinon en totalité, de moraine remaniée. Il est donc certain que le creusement mécanique de la caverne est d'âge post-wurmien, ou au plus wurmien, ce qui nous paraît très peu probable.

La question qui se pose encore est de savoir par quel chemin ce matériel exogène a pénétré dans la grotte. D'après nos constatations, ce serait surtout par une cheminée hypothétique, ou une galerie, située en amont de la galerie B, cavité aujourd'hui comblée de matériaux et inaccessible. Mais, le fort courant d'eau qui a parcouru de haut en bas la galerie d'accès a peut-être lui aussi joué un rôle non négligeable dans ce charriage.

g) *Facteurs variables du milieu souterrain.*

Dans le but de connaître les variations des principaux facteurs définissant le milieu souterrain étudié et de déterminer leurs repercussions éventuelles sur la faune cavernicole, nous avons procédé

à un certain nombre de mesures ou observations. Celles-ci ont porté sur:

- le ruissellement;
- la température de l'eau;
- la température et l'humidité relative de l'air;
- les déplacements d'air;
- les ressources alimentaires.

Le ruissellement, ou suintement, du plafond et des parois est difficile à estimer puisqu'il est constamment diffus. De nos constatations nous retiendrons ceci:

1) Le ruissellement sur les parois et dans les cheminées est permanent dans toute la grotte, sauf dans la partie terminale de la galerie B. Il était ainsi complètement tari dans cette région pendant les 3 premières semaines d'octobre 1961.

2) L'amplitude de ses variations est grande. Le débit total du ruissellement dans la galerie B peut varier de 0,3 l/min. à plus de 70 l/min. (estimation grossière).

3) Ses variations ne sont pas synchrones d'un endroit à l'autre de la grotte. Les cheminées de la galerie B réagissent par exemple plus rapidement à de fortes précipitations externes que la cheminée C<sub>1</sub> de la première salle.

4) Enfin, l'influence de fortes précipitations sur le ruissellement est sensible après un temps de latence de 12 h. environ (galerie B !). L'augmentation de débit est relativement rapide, de même que sa décroissance en cas de pluies de courte durée.

La température de l'eau a été mesurée à plusieurs reprises et en différents endroits, à l'aide d'un thermomètre permettant des lectures d'une précision de  $\frac{1}{5}$  de °C. Elle est invariablement comprise entre 6,2 et 6,6° C, pour une valeur moyenne de 6,4° C (73 mesures), que ce soit en période de ruissellement réduit, normal ou fort, après des pluies orageuses ou à la fonte des neiges, dans le ruisseau ou dans les flaques au pied des cheminées. Les valeurs inférieures s'observent dans les flaques et la partie amont du ruisseau, les valeurs supérieures dans la partie aval du ruisseau (3<sup>e</sup> salle). Au cours de son trajet dans la grotte, l'eau se

réchauffe donc très légèrement au contact de l'air ambiant un peu plus chaud, mais les 30 à 40 m de terrain qu'elle traverse avant d'atteindre la caverne, constituent un tampon thermique parfait.

Durant l'année entière, la température et l'humidité relative de l'air ont fait l'objet de mesures en un point de la grotte (galerie B, point T — cf. Plan II) au moyen d'un thermohygrographe aimablement mis à notre disposition par la Station Fédérale de Météorologie de Zurich. Il ressort de la lecture des bandes d'enregistrement de cet appareil, au demeurant assez peu sensible, que ces deux facteurs n'ont pratiquement pas varié dans la galerie B. La température de l'air y est de  $6,6^{\circ}\text{C}$  en permanence. Quant au degré hygrométrique de l'air, il est évident qu'il ne peut être dans ces conditions d'équilibre quasi constant (déplacements d'air nuls !) que très voisin du point de saturation; il atteint toujours 98 à 100%.

Dans les parties plus profondes de la grotte, la température de l'air offre des valeurs un peu moins stables, et parfois légèrement différentes de celles mesurées dans le couloir B:

Localisation des mesures (Cf. Plan II)	Température de l'air en degrés centigrades	
	Extrêmes	Moyenne
Point T <sub>10</sub> , 23 mesures (mai 1961-mai 1962)	6,4-6,8	6,6
Point T <sub>12</sub> , 3 mesures (mai-juin 1961) . .	6,4-6,8	6,5
Point T <sub>12</sub> , 3 mesures (mai-juin 1961) . .	6,4-6,8	6,6
Point T <sub>13</sub> , 3 mesures (mai-juin 1961) . .	7,0-7,2	7,1

Le boyau d'entrée très resserré, ainsi que la galerie d'accès longue et relativement étroite, sont à l'origine de la très grande stabilité thermique de la grotte. A une dizaine de mètres de l'entrée (point (T<sub>0</sub>), l'amplitude des variations de température ne dépasse pas  $5^{\circ}\text{C}$  (min.  $6^{\circ}\text{C}$ , max.  $11^{\circ}\text{C}$ ) pour une moyenne annuelle de  $7,5^{\circ}\text{C}$  environ (52 mesures).

Les déplacements d'air sont pour ainsi dire inexistants dans la galerie B, et extrêmement faibles entre l'entrée et la troisième salle. Nous les avons toujours observés s'effectuer de bas en haut, ce qui est confirmé par le trou souffleur. En effet, lorsque celui-ci fonctionne, il n'aspire pas mais refoule de l'air.

En résumé, on voit que la Grotte du Chapeau de Napoléon est caractérisée par un climat remarquablement stable au cours du

temps, et très uniforme d'un endroit à l'autre. Parmi les facteurs météorologiques externes, seules les précipitations se manifestent de façon tangible dans ce milieu souterrain.

Au début de ce paragraphe, nous avons également cité parmi les facteurs variables du milieu souterrain, les ressources alimentaires. Nous suivons en cela l'exemple donné par GINET (1951) dans son « Etude écologique de la Grotte de la Balme (Isère) ». En effet, les ressources alimentaires sous forme de débris organiques les plus divers, peuvent être présentes en quantité variable dans le temps, suivant leur nature et leur mode de pénétration dans le milieu souterrain. L'apport de matières organiques par les eaux provenant de la surface du sol, augmente ainsi pendant les crues. Dans la Grotte du Chapeau de Napoléon toutefois, l'épaisseur moyenne des terrains traversés (35 m environ) et le type de voies empruntées (fentes, diaclases étroites) constituent un filtre très efficace, qui retient la plupart des particules organiques entraînées par les eaux d'infiltration. Même en période de ruissellement intense, il ne semble pas que cet apport soit augmenté de façon notable, si ce n'est au pied de la cheminée  $C_1$  et dans la galerie d'accès, où l'on peut constater alors l'apparition de quelques débris végétaux reconnaissables à l'œil nu (fragments d'aiguilles de sapin).

D'autres ressources alimentaires sont sujettes à des fluctuations saisonnières plus ou moins nettes. C'est le cas non négligeable des cadavres d'animaux troglodytes dont le nombre croît en automne (celui des Phryganes notamment), ou au printemps (Opilions, dont toutefois les cadavres n'attirent pas les cavernicoles). Les amas d'excréments de Chauve-souris, en général alimentés irrégulièrement au cours de l'année, n'existent pratiquement pas dans la grotte qui nous occupe. Le guano s'y trouve toujours sous forme de crottes isolées déjà anciennes, sauf à un endroit de la troisième salle (extrémité sud-est) où il est un peu plus abondant. Les rares déjections fraîches n'ont été également observées que dans la salle terminale. Le rôle alimentaire joué par le guano de Chauve-souris apparaît ainsi comme fort restreint actuellement.

Les substances organiques contenues à l'état colloïdal dans le mond-milch (cf. p. 322) constituent à n'en pas douter, le point de départ d'une chaîne alimentaire importante du milieu souterrain dont on n'entrevoit pour le moment que le premier maillon. Quels

sont les facteurs qui affectent la flore bactérienne, les variations qui en découlent et leurs répercussions éventuelles sur la faune supérieure ? L'état actuel de nos connaissances ne permet pas de le préciser.

Il importe de relever enfin, que l'équilibre alimentaire de la grotte a été sinon rompu, du moins très sensiblement modifié au cours de nos recherches par l'apport artificiel, constant et massif de matières organiques normalement étrangères au milieu souterrain. Un matériel ligneux abondant a été introduit pour l'aménagement de la galerie d'accès, permettant ainsi l'établissement d'une flore mycologique variée. A chaque visite et malgré nos précautions, nous entraînions en profondeur divers débris végétaux et de l'humus ordinairement localisés dans le boyau d'entrée. Mais tout ceci n'est rien évidemment, en regard de l'appâtage intensif auquel nous avons procédé dans nos pièges.

Le problème des ressources alimentaires est donc fort complexe dans le milieu souterrain, et il n'est point aisé, ou même impossible actuellement, de répondre aux multiples questions qu'il soulève.

## — CHAPITRE II

### COMPOSITION DE LA FAUNE

#### a) *Micro-organismes.*

Nous n'avons procédé qu'à quelques recherches occasionnelles à l'endroit de la microfaune du milieu aquatique souterrain. Trois prélèvements d'eau nous ont néanmoins permis de constater la présence dans les flaques de la galerie B et de la première salle, d'assez nombreux Protozoaires. Les espèces dominantes appartiennent aux deux genres *Amoeba* et *Paramecium*. Mais d'autres formes ont également été entrevues, notamment un grand Flagellé dont la vélocité et la rareté empêchèrent l'identification.

Dans un autre domaine puisqu'il s'agit de la microflore, signalons en passant la découverte fortuite dans le même milieu d'une leucothiobactériale filamenteuse et mobile, du genre *Beggiatoa* (dét. Ch. Terrier, Neuchâtel).

b) *Invertébrés.*

Nous donnons ci-dessous la liste des espèces recueillies, en précisant chaque fois s'il s'agit de formes (cf. JEANNEL, 1926, p. 37):

*troglobies* (espèces spéciales aux cavernes, n'existant pas dans le domaine épigé);

*troglophiles* (espèces fréquentes dans les grottes, y vivant et s'y reproduisant normalement, mais se retrouvant aussi dans les domaines humides et obscurs du domaine épigé);

*trogloxènes* (hôtes occasionnels des cavernes, y pénétrant par des voies diverses, mais n'y accomplissant pas tout leur cycle évolutif).

Dans la dernière catégorie nous distinguons, pour autant qu'il soit possible de le faire, les troglloxènes *réguliers* des troglloxènes *irréguliers* ou accidentels. Les premiers se rencontrent relativement souvent dans les grottes, surtout près de l'entrée, tandis que les seconds ne pénètrent dans le milieu souterrain que de façon tout à fait inhabituelle et sporadique.

A cela nous ajouterons l'indication sommaire du lieu (cf. Plans I et II) et de l'abondance des captures (les résultats détaillés des piégeages seront présentés et étudiés au Chapitre III), ainsi que, ici et là, les observations dignes d'intérêt effectuées en laboratoire, sur le terrain, ou fournies par la littérature. Les trouvailles nouvelles pour les grottes de Suisse seront précédées d'un astérisque double (\*\*), celles recueillies jusqu'à maintenant dans moins de trois grottes d'un astérisque simple (\*).

Il est nécessaire enfin de souligner que seul un échantillonnage restreint de notre matériel a pu être examiné par des spécialistes. La détermination du reste, numériquement très important pour certaines espèces, a été effectuée par nous-même et par simple comparaison. Il n'est donc pas exclu que quelques espèces difficilement distinguables de celles déjà reconnues nous aient échappées, auquel cas la liste ci-dessous cesserait d'être exhaustive.

GASTEROPODA PULMONATA (dét. E. Binder, Genève).

\*\* 1. *Cepaea* sp. juv. — Troglloxène.

Quelques coquilles vides trouvées dans la partie supérieure de la galerie d'accès.



- \*\* 2. *Clausilia parvula* Studer — Trogloxène.  
Une coquille vide trouvée au haut de la galerie d'accès.
3. *Discus rotundatus* Müller — Troglophile ?  
Plusieurs coquilles vides recueillies dans la partie supérieure de la galerie d'accès.
4. *Helicigona lapicida* L. — Trogloxène.  
Une coquille vide recueillie dans la partie supérieure de la galerie d'accès.
5. *Oxychilus cellarius* Müller — Troglophile.  
Plusieurs coquilles vides récoltées dans le boyau d'entrée et dans la partie supérieure de la galerie d'accès.
- \*\* 6. *Vitrea diaphana* Stud., var. *subrimata* Rheinh. — Trogloxène.  
Plusieurs coquilles vides trouvées dans la partie supérieure de la galerie d'accès.

AMPHIPODA (dét. M. Straskraba, Prague).

7. *Niphargus longicaudatus rhenorhodanensis* Schell. — Troglobie (cf. Pl. IV).

Fréquent dans les grottes de Suisse, et particulièrement répandu dans le Jura méridional. L'aire de répartition de cette sous-espèce se superposerait à la Méditerranée Néogène d'où elle doit tirer son origine; les glaciations quaternaires n'ont pas agit sur elle (GINET 1953).

Sa présence toujours peu abondante a été constatée au cours de l'année entière dans toutes les flaques à fond argileux. Quelques individus furent maintenus vivants en captivité pendant 5 semaines, sur argile et dans de l'eau non oxygénée à la température ambiante (18-22° C). Aussi bien dans la grotte qu'en laboratoire, nous avons pu observer les terriers creusés par cet Amphipode (GINET, 1955, 1960).

DIPLOPODA (N° 8 et 9: dét. O. Schubart, Pirassununga, Brésil; n° 10: dét. J. M. Demange, Paris).

- \* 8. *Glomeris (Stenopleuromeris) helvetica* Verhoeff — Trogloxène irrégulier.

Espèce sténotherme fréquentant les endroits frais, répandue en Suisse mais jusqu'ici signalée dans deux grottes seulement (Communication écrite de O. Schubart).

Un seul exemplaire mâle capturé dans le boyau d'entrée.

9. *Polydesmus (Polydesmus) helveticus hermeticus* Verhoeff — Troglophile.

Trois exemplaires capturés dans la partie supérieure de la galerie d'accès, dont deux dans le piège 02.

- \*\* 10. *Hypsoiulus alpivagus* Verhoeff — Trogloxène irrégulier.

Un unique individu recueilli dans le piège 02 du haut de la galerie d'accès.

#### PSEUDOSCORPIONIDEA (dét. M. Vachon, Paris).

- \*\* 11. *Neobisium simile* Koch — Troglophile (cf. Pl. IV).

La révision des *Neobisium* de notre région (professeur M. Vachon) n'étant pas terminée, il n'est pas possible de préciser à quelle sous-espèce appartiennent les quatre individus capturés dans la Grotte du Chapeau de Napoléon.

Trois exemplaires proviennent de la galerie B, et un quatrième de la 1<sup>re</sup> salle.

#### OPILIONES (dét. E. Dresco, Paris).

12. *Liobunum limbatum* Koch — Trogloxène irrégulier.

Quelques individus seulement ont été observés dans la galerie d'accès.

13. *Nelima aurantiaca* Sim. — Trogloxène régulier.

Cette espèce est de tous les trogloxènes rencontrés, de loin la plus fréquente, et elle envahit progressivement toute la grotte dès le début de la mauvaise saison. Dans la galerie d'accès, au plafond de certaines niches latérales c'est par centaines ou milliers d'individus qu'on peut la compter après les premiers gels d'automne.

Les Opilions passent l'hiver étroitement appliqués au rocher, dans un état de jeûne permanent semble-t-il et d'immobilité absolue s'ils ne sont pas dérangés. La présence pendant quelques instants d'une lampe à carbure

à 1 ou 2 m au-dessous d'eux, suffit à les faire tomber sur le sol de la grotte.

Au printemps les Opilions sortent de leur engourdissement et convergent en masse vers la sortie. C'est à cette époque seulement que quelques-uns d'entre eux sont attirés par les appâts des pièges (cf. chapitre suivant).

Le gros de la migration, que ce soit de l'extérieur vers l'intérieur de la grotte ou vice versa, ne dure pas plus d'une à deux semaines.

D'assez nombreux débris (pattes) d'Opilions jonchent le sol de la caverne en certains endroits. Il s'agit probablement de restes d'individus morts en cours d'hibernation. Nous avons observé que les cadavres d'Opilions n'attirent aucune espèce fréquentant la grotte. Les Collemboles semblent même subir une répulsion très nette à leur égard.

Durant la belle saison enfin, les Opilions se cantonnent exclusivement dans le boyau d'entrée. Ils y sont d'ailleurs toujours peu nombreux.

ARANEINA (dét. J. Denis, Aumale).

14. *Meta menardi* Latreille — Troglonète régulière.

C'est la seule Araignée qui soit régulièrement présente dans le boyau d'entrée durant toute la belle saison.

15. *Micargus herbigradus* Blackw. — Troglonète irrégulière.

Un seul individu, mâle, recueilli dans la galerie B au pied de la cheminée C<sub>4</sub>.

\*\* 16. *Porrhomma microphthalmum* Cambridge — Troglonète irrégulière.

Egalement un seul individu, mâle, trouvé vivant à la surface d'une flaque d'eau de la partie aval du couloir B.

ACARI (N° 17 et 19: dét. J. Cooremann, Bruxelles; n° 18: dét. H. Coiffait, Toulouse).

17. *Eugamasus magnus magnus* Kramer — Troglophile (COOREMANN 1954).

Assez fréquent. Les deux tiers des individus capturés proviennent de la galerie B.

## 18. Oribatidé.

Débris d'un seul individu (dont l'espèce n'est pas identifiable) trouvés dans la partie inférieure de la galerie B.

\* 19. *Rhagidia mordax grandis* Willmann — Troglobie.

Relativement peu connu en Suisse.

Rare, capturé exclusivement à proximité de la première salle (dans la partie inférieure du couloir B et dans le boyau latéral).

## DIPLURA (dét. B. Condé, Nancy).

20. *Plusiocampa sollaudi* Denis — Troglobie (cf. Pl. IV).

Rencontré dans de nombreuses grottes du Jura.

Fréquent dans toute la grotte, surtout dans la partie terminale de la galerie B et au voisinage de la 1<sup>re</sup> salle. Presque totalement absent de la galerie d'accès. Deux individus ont survécu en laboratoire pendant sept mois en compagnie de Coléoptères troglobies (cf. plus loin).

## THYSANURA (dét. J. Bitsch, Dijon).

\* 21. *Dilta* sp. — Troglonexène irrégulier.

Trois individus femelles (indéterminables spécifiquement) récoltés dans le boyau d'entrée.

## COLLEMBOLA (dét. H. Gisin, Genève).

22. *Arrhopalites pygmaeus* Wank. — Troglobie, rencontré dans les grottes d'Europe centrale (GISIN 1960 a et b).

Abondant, mais surtout dans la partie inférieure du réseau étudié.

23. *Onychiurus handschini handschini* Denis — Troglobie connu des grottes du Jura suisse et français (GISIN 1960a et b).

Beaucoup moins fréquent que l'espèce précédente. Les captures ont été effectuées en majorité dans la moitié amont de la galerie B.

24. *Pseudosinella vandeli vandeli* Denis — Troglobie endémique des grottes du Jura suisse et français (GISIN 1960a et b).

Espèce de loin la plus abondante dans la Grotte du Chapeau de Napoléon. Les piégeages les plus fructueux sont localisés, comme pour *A. pygmaeus*, dans la partie inférieure du couloir B, dans la première salle et en aval de celle-ci.

Trois individus ont été maintenus vivants en laboratoire pendant plus de neuf mois dans le même milieu que les *Royerella* (cf. plus loin).

25. *Tomocerus flavescens* Tullb. — Troglonexène accidentel. Espèce fréquentant les forêts d'Europe (GISIN 1960a et b).

Un seul individu capturé dans la galerie d'accès.

DERMAPTERA (dét. de l'auteur).

- \*\* 26. *Forficula auricularia* L. — Troglonexène accidentel.

Un unique exemplaire, mâle, recueilli dans un piège de la galerie B. La présence de ce Forficule, espèce lucicole et hygrophile surtout abondante dans les régions de cultures, est assez surprenante. Peut-être l'avons-nous introduit nous-mêmes sans le savoir dans la grotte, caché dans quelque poche ou repli de vêtement humide.

COLEOPTERA (N° 27, 28, 30, 32: dét. H. Coiffait, Toulouse; n° 29 et 31: dét. O. Scherpeltz, Vienne).

27. *Abax ater* Villa — Troglonexène irrégulier.

Plusieurs larves recueillies dans la galerie d'accès, au bas de celle-ci et dans la partie inférieure du couloir B.

- \* 28. *Catops picipes* F. — Troglophile.

Assez fréquent, notamment dans la galerie d'accès. Totalement absent dans les parties moyenne et terminale de la galerie B.

29. *Omalium validum* Kraatz — Troglonexène irrégulier.

Un seul individu de cette espèce capturé au haut de la galerie d'accès.

\*\* 30. *Pterostichus honnorati* Dej. — Troglonexène accidentel.

Un seul représentant, provenant également du haut de la galerie d'accès.

31. *Quedius mesomelinus* Marsch. — Troglophile, guanobie.

Deux individus adultes et une larve. Les deux premiers recueillis dans la partie supérieure de la galerie d'accès, la larve dans le bas du couloir B.

32. *Royerella villardi sermeti* Jeann. — Troglobie signalé dans de nombreuses grottes du Jura français et du Jura suisse (JEANNEL 1955) (Pl. IV).

Fréquent. Le fond de la galerie B, la 1<sup>re</sup> salle (boyau latéral) et son prolongement en aval, sont les endroits où nous avons capturé le plus de *Royerella*. Trois larves de cette espèce, proviennent également du boyau latéral de la première salle (cf. description au Chap. IV.).

Nous avons tenté, avec succès, de garder des *Royerella* vivants en laboratoire. Sur 27 individus placés dans un grand cristalliseur, en atmosphère saturée d'humidité, sur un fond constitué de sable et de morceaux d'argile (le sable comme l'argile ont été prélevés dans la grotte) et à une température moyenne de 11° C, 16 vivaient encore après plus de neuf mois de captivité. Leur nourriture consistant en cadavres de Mouches domestiques, à raison d'une mouche toutes les trois semaines environ.

Huit de ces Coléoptères répartis de façon égale dans quatre cristalliseurs différents et privés de nourriture pendant toute leur captivité, ont survécu de la façon suivante:

- 1) Sur fond de sable non stérilisé:  
respectivement 28 et 29 semaines.
- 2) Sur fond d'argile non stérilisé:  
respectivement 11 et 17 semaines.
- 3) Sur fond de sable stérilisé à l'étuve:  
respectivement 16 et 19 semaines.
- 4) Sur fond d'argile stérilisé à l'étuve:  
respectivement 10 et 15 semaines.

Il apparaît donc que le sable, stérilisé ou non, est plus favorable aux *Royerella* que l'argile, ceci pour des raisons qui nous échappent

totale. La stérilisation du milieu (opération très illusoire d'ailleurs, puisque les Coléoptères ne peuvent être eux-mêmes stérilisés !) raccourcirait plus ou moins nettement la durée de survie. Il est évident que pour pouvoir en tirer des conclusions définitives, ces expériences devraient être reprises sur une plus grande échelle.

Si l'élevage des *Royerella* semble difficile à réaliser en laboratoire, nous avons néanmoins pu assister à plusieurs accouplements de ces Coléoptères au cours du mois de novembre 1961. Le mâle chevauche entièrement la femelle qui est en position normale; il la saisit brusquement en arrière du thorax puis s'y agrippe à l'aide de ses pattes antérieures. La copulation, marquée de mouvements saccadés de la part du mâle, dure 1 à 3 minutes environ selon les cas, la femelle cherchant constamment à se dégager. Aucune ponte n'a été observée, bien que nous ayons isolé six femelles immédiatement après la copulation.

HYMENOPTERA (dét. Cl. Besuchet, Genève).

33. *Amblyteles armatorius* Först. — Trogloxène assez fréquemment rencontré dans les grottes de Suisse.

Deux exemplaires, l'un trouvé au haut de la galerie d'accès, l'autre dans la partie inférieure du couloir B sur une coulée de mond-milch.

TRICHOPTERA (dét. B. Frochot, Dijon).

34. *Micropterna fissa* Mcl. — Trogloxène.

Les quelques individus déterminés avec sûreté appartiennent tous à cette espèce, mais il est fort probable que d'autres formes de Phryganes se rencontrent dans la Grotte du Chapeau de Napoléon (cf. Pl. V).

Nous avons constaté la présence constante, mais jamais très abondante, des Trichoptères durant toute la belle saison dans la galerie d'accès, la première salle et les régions inférieures de la galerie B. Les dates d'apparition et de disparition des Phryganes dans la grotte ont coïncidé avec celles du départ, respectivement de l'arrivée des Opilions.

Plusieurs Phryganes meurent au cours de leur séjour souterrain. Leurs cadavres attirent une foule d'insectes divers: des Collem-

boles, des *Royerella* et même des Diptères qui y déposent leurs œufs. Après trois semaines environ, il ne subsiste plus d'un cadavre que ses parties chitineuses.

LEPIDOPTERA (dét. V. Aellen, Genève).

35. *Triphosa dubitata* L. — Trogloxène régulier rencontré dans les grottes de toute l'Europe.

Dans la Grotte du Chapeau de Napoléon, il n'a été trouvé que deux fois seulement, dans le haut de la galerie d'accès.

DIPTERA (dét. L. Matile, Paris).

36. *Culex (culex) pipiens* L. — Trogloxène hivernant, régulier (MATILE 1962).

Très rare, et rencontré exclusivement dans la partie supérieure de la galerie d'accès.

- \*\* 37. *Erechia pulchella* Winn. — Trogloxène accidentel non encore signalé dans le domaine hypogé en Suisse.

Recueilli quatre fois dans et aux abords de la première salle.

- \*\* 38. *Orthocladius (Chaetocladius)* sp. — Trogloxène irrégulier.

Deux exemplaires récoltés aux mêmes endroits que ceux de l'espèce précédente.

- \*\* 39. *Pachyrina* sp. — Trogloxène accidentel, nouveau comme *Orthocladius* pour la faune cavernicole de la Suisse.

Un seul exemplaire trouvé dans la partie moyenne de la galerie B.

40. Phoridés indét. — Troglophiles.

Ils appartiennent à une seule espèce, répandue dans toute la grotte. C'est le Diptère dominant.

41. *Thelida atricornis* Meig. — Troglophile-guanophile assez répandu dans les grottes européennes (MATILE 1962. — cf. Pl. V).

Assez rare, capturé dans les parties inférieure et moyenne de la galerie B, ainsi que dans le passage reliant la première à la deuxième salle.



42. *Trichocera maculipennis* Meig. — Troglophile-guanophile connu dans les grottes de toute l'Europe (MATILE 1962).

Rare, recueilli sous forme de larves ou d'adultes dans le couloir B jusqu'à la cheminée C<sub>4</sub>, et dans la galerie conduisant à la deuxième salle.

43. *Trichocera regelationis* L. — Trogloxène régulier également très répandu (MATILE 1962).

Diptère le plus fréquent après les Phoridae. Rencontré un peu partout dans la grotte, jusqu'au fond du couloir B.

c) *Vertébrés.*

Parmi les Vertébrés, la faune actuelle de la Grotte du Chapeau de Napoléon ne comprend que deux espèces de Chauve-souris. En plus de celles-ci, nous mentionnerons toutefois également les espèces retrouvées à l'état de restes osseux en divers endroits de la caverne. Il s'agit dans ce cas, soit d'animaux tombés accidentellement dans la grotte et incapables d'en ressortir (Renard, Crapauds, etc.), soit d'animaux ayant fréquenté naturellement le milieu souterrain (Chéiroptères, Loirs). Les déterminations d'ossements ont été effectuées par nous-même.

AMPHIBIA.

44. *Bufo* sp. — Restes de deux Crapauds au moins, recueillis dans la galerie d'accès.

AVES.

45. *Anas platyrhynchos* L. (dét. confirmée par S. Schaub, Bâle).  
Un coracoïde gauche de Canard sauvage (!) trouvé dans la première salle. On peut se demander dans quelles circonstances ce vestige a abouti dans la grotte.

MAMMALIA.

46. *Myotis bechsteini* Kuhl — Un crâne entier de cette espèce peu commune recueilli dans le bas de la galerie B.
47. *Myotis daubentoni* Kuhl — Deux crânes presque complets, l'un provenant de la première salle, l'autre de la région inférieure de la galerie B.

48. *Myotis emarginatus* Geoffroy — Un squelette incomplet découvert dans la galerie B, partie aval, semble devoir être attribué au Murin échancré, très rare en Suisse actuellement.
49. *Myotis myotis* Borkhausen — Deux Grand Murins vivants ont été vus les 21 et 28 mai 1961 dans la partie la plus profonde de la grotte, c'est-à-dire à l'extrémité nord-est de la diaclase terminale (3<sup>e</sup> salle).  
En outre, nous avons récolté les vestiges osseux de trois individus de cette espèce en trois points différents de la caverne: à l'extrémité nord-est de la troisième salle, au fond de la deuxième salle et dans la partie moyenne du couloir B.
50. *Rhinolophus hipposideros* Bechstein — Un Petit Fer-à-cheval femelle était accroché dans la troisième salle le 21 mai 1961, à proximité des Grand Murins. Au même endroit, sur le sol, gisait le cadavre déjà très décomposé d'un autre Petit Fer-à-cheval.  
Les ossements appartenant à cette espèce sont nombreux et disséminés dans toute la grotte. Ils représentent au moins 17 individus.
51. *Glis glis* L. — Le Loir gris qui n'existe plus actuellement dans le Val-de-Travers, ou du moins qui y est extrêmement rare, a fréquenté assidûment la Grotte du Chapeau de Napoléon dans le passé. En effet, pas moins de 26 squelettes, souvent complets, ont été recueillis. Ils se trouvaient un peu partout dans la grotte, excepté dans la galerie d'accès. Fait intéressant à signaler, la plupart d'entre eux n'étaient pas isolés, mais groupés étroitement par 2, 3, 4, ou même 5 en différents endroits. Il s'agit vraisemblablement d'animaux ayant cherché refuge dans la grotte à l'approche de la mauvaise saison, et morts ensemble pendant leur sommeil hivernal. Ceci nous paraît être en tout cas l'explication la plus plausible, puisque l'on sait que les Loirs se mettent généralement à plusieurs pour passer l'hiver.

52. *Lepus europeus* Pallas — Restes d'un seul individu recueillis dans le boyau d'entrée. Certains os portent des traces de morsures de carnassier, de Renard sans doute.
53. *Microtus* sp. — Un fémur trouvé dans le couloir B. En l'absence de mâchoires, l'espèce de Campagnol à laquelle il appartient ne peut être précisée.
54. *Vulpes vulpes* L. — Le Renard est représenté par un squelette très incomplet, dont les éléments étaient disséminés dans la galerie d'accès et la première salle.

d) *Commentaires et tableau récapitulatif.*

La Grotte du Chapeau de Napoléon possède une faune remarquablement riche, puisque nous y avons recueilli, vivantes ou sous forme de restes, pas moins de 54 espèces différentes. Toutes, à l'exception d'une seule (*Niphargus longicaudatus rhenorhodanensis*) appartiennent au milieu terrestre. La pauvreté du milieu aquatique peut avoir plusieurs causes. Citons parmi les plus probables, l'absence de relations directes avec de grands réseaux phréatiques, et la localisation de la caverne à l'intérieur de l'aire occupée par les glaciers quaternaires.

Si l'on envisage seulement les Invertébrés et les Vertébrés capturés ou observés vivants (cf. tableau I, p. 26), on obtient un total de 39 espèces qui se répartissent de la façon suivante :

troglobies . . . . .	7 (ou 18%)
troglophiles . . . . .	8 (ou 21%)
trogloxènes . . . . .	23 (ou 59%)
indéterminés . . . . .	1 (ou 2%)

La richesse en espèces est due donc en grande partie à la présence de nombreuses formes troglloxènes. Nul doute par conséquent, que plusieurs grottes de notre pays révéleraient une faune au moins aussi riche qualitativement, si elles faisaient l'objet de visites aussi fréquentes que celles que nous avons effectuées dans la Grotte du Chapeau de Napoléon.

---

TABLEAU I.

*Liste récapitulative des Invertébrés et Vertébrés capturés  
ou observés vivants dans la Grotte du Chapeau de Napoléon.*

Espèces	Troglobies	Troglophiles	Trogloxènes	Espèces nouvelles pour les grottes de Suisse	Espèces rares dans les grottes de Suisse
7. <i>Niphargus longicaudatus rheno-</i> <i>rhodanensis</i> Schell. . . . .	+		+		+
8. <i>Glomeris helvetica</i> Verh. . . . .			+		
9. <i>Polydesmus h. helveticus</i> Verh. . . . .		+			
10. <i>Hypsoiulus alpinvagus</i> Verh. . . . .			+	++	
11. <i>Neobisium simile</i> Koch . . . . .		+		++	
12. <i>Liobunum limbatum</i> Koch . . . . .			+		
13. <i>Nelima aurantiaca</i> Sim. . . . .			+		
14. <i>Meta menardi</i> Latr. . . . .			+		
15. <i>Micrargus herbigradus</i> Blackw. . . . .			+		
16. <i>Porrhomma microphthalmum</i> Cambr.			+	++	
17. <i>Eugamasus m. magnus</i> Kramer . . . . .		+			
18. Oribatidé . . . . .	?	?	?	?	?
19. <i>Rhagidia mordax grandis</i> Will. . . . .	+				+
20. <i>Plusiocampa sollaudi</i> Denis . . . . .	+				
21. <i>Dilta</i> sp. . . . .			+		+
22. <i>Arrhopalites pygmaeus</i> Wankel . . . . .	+				
23. <i>Onychiurus h. handschini</i> Denis . . . . .	+				
24. <i>Pseudosinella v. vandeli</i> Denis . . . . .	+				
25. <i>Tomocerus flavescens</i> Tullb. . . . .			+		
26. <i>Forficula auricularia</i> L. . . . .			+	++	
27. <i>Abax ater</i> Villa . . . . .			+		
28. <i>Catops picipes</i> F. . . . .		+			+
29. <i>Omalius validum</i> Kraatz . . . . .			+		
30. <i>Pterostichus honnorati</i> Dej. . . . .			+	++	
31. <i>Quedius mesomelinus</i> Marsch. . . . .		+			
32. <i>Royerella villardi sermeti</i> Jeann. . . . .	+				
33. <i>Amblyteles armatorius</i> Först . . . . .			+		
34. <i>Micropterna fissa</i> Mcl. . . . .			+		
35. <i>Triphosa dubitata</i> L. . . . .			+		
36. <i>Culex pipiens</i> L. . . . .			+		
37. <i>Exechia pulchella</i> Winn. . . . .			+	++	
38. <i>Orthocladus</i> sp. . . . .			+	++	
39. <i>Pachyrina</i> sp. . . . .			+	++	
40. Phoridés . . . . .		+			
41. <i>Thelida atricornis</i> Meig. . . . .		+			
42. <i>Trichocera maculipennis</i> Meig. . . . .		+			
43. <i>Trichocera regelationis</i> L. . . . .			+		
49. <i>Myotis myotis</i> Bork. . . . .			+		
50. <i>Rhinolophus hipposideros</i> Bech. . . . .			+		
<i>Total</i> : 39 espèces . . . . .	7	8	23	8	4
%	18	21	59	21	10

## CHAPITRE III

ÉTUDE STATISTIQUE DE LA FAUNE TERRESTRE  
(Invertébrés)

## A) RÉSULTATS DES PIÉGEAGES ET DES OBSERVATIONS

Afin d'en faciliter la lecture, les résultats essentiels de nos piégeages seront présentés sous forme graphique (cf. fig. 2 à 6). Les résultats numériques détaillés rassemblés dans plusieurs tableaux sont tenus par l'auteur à la disposition de tout chercheur qui en ferait la demande. Chaque tableau donne des renseignements précis sur la répartition quantitative, chronologique et topographique de la faune, respectivement des espèces qui la composent, ainsi que sur la spécialisation éventuelle de celles-ci pour un type donné d'appât. L'analyse approfondie de ceux-ci est d'ailleurs exposée au cours des pages suivantes.

## B) INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

a) *Classement quantitatif des espèces récoltées*

Selon l'abondance numérique de leurs représentants, nous avons réparti les espèces en 4 catégories :

*Espèces extrêmement abondantes* (plus de 1000 individus capturés):

*Pseudosinella v. vandeli*

*Arrhopalites pygmaeus*

(*Nelima aurantiaca*)

*Espèces abondantes* (plus de 100 individus capturés):

*Royerella villardi sermeti*

Phoridés

*Plusiocampa sollaudi*

*Onychiurus h. handschini*

(Trichoptères)

*Espèces peu fréquentes* (plus de 10 individus capturés):

(*Meta menardi*)

*Eugamasus m. magnus*

*Trichocera regelationis*

*Catops picipes*

*Thelida atricornis*

(*Liobunum limbatum*)

Espèces rares (10 individus capturés au plus)

*Rhagidia mordax grandis*

*Abax ater*

*Trichocera maculipennis*

*Exechia pulchella*

*Neobisium simile*

*Culex pipiens*

*Dilta* sp.

*Polydesmus h. helveticus*

*Quedius mesomelinus*

*Amblyteles armatorius*

*Orthocladus* sp.

*Triphosa dubitata*

(*Myotis myotis*)

*Micargus herbigradus*

*Porrhomma microphthalmum*

*Forficula auricularia*

*Glomeris helvetica*

*Omalium validum*

Oribatidé

*Pachyrina* sp.

*Pterostichus honorati*

(*Rhinolophus hipposideros*)

*Hypsoiulus alpivagus*

*Tomocerus flavescens*

Dans chaque catégorie les espèces sont classées par ordre de fréquence décroissante. Entre parenthèses figurent les noms de formes n'ayant pas fait l'objet de captures systématiques.

Comme on pouvait s'y attendre, les deux premières catégories renferment avant tout des troglobies véritables. *Pseudosinella v. vandeli* y est très largement dominante ainsi que nous l'avons relevé plus haut, puisqu'elle totalise à elle seule le 82% des individus capturés au cours de nos recherches. Quant à *Arrhopalites pygmaeus*, il entre pour 9,9% dans l'ensemble des captures, suivi

de loin par *Royerella villardi* (2,9%), *Plusiocampa sollaudi* (1,2%) et *Onychiurus hanschini* (0,9%). Les Phoridés, troglaphiles, se trouvent être avec 1,7% un peu plus nombreux que le Diploure *P. sollaudi*. Les Opilions (*Nelima aurantiaca*) et les Trichoptères sont également à compter au sein des hôtes courants de la caverne.

S'opposant nettement aux deux catégories précédentes, le reste de la faune ne représente que 1,4% des captures. Ces formes peu fréquentes ou rares ne comprennent qu'une seule espèce troglobie, l'Acarien *Rhagidia mordax grandis*, et au moins 18 espèces troglaxènes. Parmi celles-ci, les 11 dernières de la liste ci-dessus ne sont représentées chacune que par un unique exemplaire.

#### b) Répartition topographique des différentes espèces

Certaines espèces sont présentes dans toute la grotte; d'autres, au contraire, sont localisées dans des régions plus ou moins vastes. En outre, pour les espèces que l'on rencontre sur de larges espaces, le nombre d'individus capturés peut varier sensiblement d'un endroit à l'autre. L'examen de ces points constitue l'objet des deux paragraphes suivants.

#### Répartition qualitative dans l'espace :

##### — Espèces répandues dans toute la grotte \*

*Nelima aurantiaca*

##### — Espèces répandues dans toute la grotte mais absentes dans le boyau d'entrée :

*Arrhopalites pygmaeus*

Phoridés

*Plusiocampa sollaudi*

*Pseudosinella* v. *vandeli*

*Royerella villardi sermeti*

*Trichocera regelationis*

*Eugamasus m. magnus*, quoique absent des zones 1 et 9, doit probablement être aussi rangé dans ce groupe.

##### — Espèces localisées dans la galerie d'accès, la 1<sup>re</sup> salle (zone 9) et ses abords (zones 8 et 10) :

*Abax ater*

*Amblyteles armatorius*

---

\* = dans toute la partie étudiée systématiquement, soit ce qui se trouve en amont de la deuxième salle !

*Catops picipes*  
*Quedius mesomelinus*  
*Rhagidia mordax grandis*  
*Triphosa dubitata*  
 Trichoptères

— *Espèces rencontrées dans la galerie d'accès uniquement, ou dans le boyau d'entrée :*

*Meta menardi*  
*Culex pipiens*  
*Dilta* sp.  
*Glomeris helvetica*  
*Liobunum limbatum*  
*Omalium validum*  
*Polydesmus helveticus*  
*Pterostichus honnorati*  
*Hypsoiulus alpivagus*  
*Tomocerus flavescens*

— *Espèces non rencontrées dans la galerie d'accès ou le boyau d'entrée.*

*Micrargus herbigradus*  
*Porrhomma microphthalmum*  
*Exechia pulchella*  
*Forficula auricularia*  
*Neobisium simile*  
*Onychiurus h. hanschini*  
 Oribatidé  
*Orthocladus* sp.  
*Pachyrina* sp.  
*Thelida atricornis*  
*Trichocera maculipennis*

On voit que la galerie d'accès est fréquentée par la plupart des espèces, y compris, fait assez surprenant, par 5 des 6 troglobies terrestres récoltés. La présence de ceux-ci à quelques mètres du milieu épigé, est certainement une conséquence de l'exigüité de l'entrée, le « climat souterrain » n'étant de cette façon que très peu influencé par les variations météorologiques externes (cf. p. 326). Le seul troglobie qui fasse défaut à cet endroit est *Onychiurus handschini*.



La majorité des espèces non typiquement cavernicoles se rencontre, comme il se doit, dans les régions les moins éloignées de l'entrée. Toutefois, quelques Diptères s'enfoncent assez profondément dans la grotte, certains (*Phoridés*, *Trichocera regelationis*) atteignant même l'extrémité de la galerie B (zone 1).

Chez les Acariens, le troglophile *Eugamasus m. magnus* a été capturé un peu partout (excepté dans les zones 1 et 9), tandis que le troglobie *Rhagidia mordax grandis* semble être strictement localisé dans les zones 8, 9 et 0 (= galerie d'accès).

Dans le tableau suivant (Tableau II), il est intéressant de noter que le nombre total des espèces troglloxènes et trogllophiles rencontrées dans chaque région, ne dépend pas uniquement de la distance séparant les régions considérées de l'entrée. Ainsi, dans la zone 8 nous avons récolté 16 espèces troglloxènes ou trogllophiles, alors que la zone 9, située plus près de l'entrée, n'en livrait que 8. La région 7 est également plus pauvre en espèces que les zones 6, 5 et 4 plus profondes. Ces différences sont dues à des facteurs difficiles à préciser, mais parmi lesquels les conditions lithologiques et alimentaires jouent probablement un rôle prépondérant.

TABLEAU II

Répartition numérique des espèces selon les différentes régions de la grotte

Régions données suivant l'ordre croissant de la distance les séparant de l'entrée	Nombre d'espèces rencontrées		
	Troglloxènes + trogllo- philes	Troglobies	Total des espèces
Zone 0 = galerie d'accès . . . .	19	5	24
Zone 9 = 1 <sup>re</sup> salle et boyau laté- ral . . . . .	8	6	14
Zone 8 = partie inférieure de la galerie B . . . . .	16	6	22
Zone 10 = galerie reliant la 1 <sup>re</sup> à 2 <sup>e</sup> salle . . . . .	8	5	13
Zone 7 =	5	5	10
Zone 6 =	7	5	12
Zone 5 =	7	5	12
Zone 4 = régions de la galerie B	7	5	12
Zone 3 =	5	5	10
Zone 2 =	4	5	9
Zone 1 =	3	5	8



*Répartition quantitative dans l'espace.*

On ne peut l'envisager que pour les espèces abondamment représentées dans la grotte. Nous nous bornerons d'ailleurs ici à présenter les faits tels qu'ils se dégagent de nos résultats de piégeages et d'observations, car, faute de recherches plus précises et plus nombreuses, il nous est impossible pour le moment de comprendre le pourquoi de la présence abondante de telle ou telle espèce troglobie dans une région plutôt que dans une autre. La multiplicité des facteurs qui interviennent et la difficulté qu'il y a de les définir objectivement, en sont responsables.

Les 5 espèces troglobies peuvent être schématiquement réparties en deux catégories (cf. tableau III). D'une part nous trouvons les 2 Collemboles *Pseudosinella vandeli* et *Arrhopalites pygmaeus*, très fréquents dans les régions relativement proches de l'entrée (zones 8, 9 et 10), mais rares ou très rares même dans les parties plus éloignées (zones 1 à 6). D'autre part, il y a les 3 espèces *Plusiocampa sollaudi*, *Onychiurus handschini*, *Royerella villardi*, qui sont aussi bien représentées dans les régions antérieures que dans les régions terminales de la galerie B. Chacune des 5 formes troglobies est rare, très rare ou absente de la galerie d'accès.

L'unique troglophile abondant (Phoridés) est fréquent dans la galerie d'accès, assez fréquent dans les régions aval et moyenne du couloir B. Sa relative abondance au pied de la cheminée C<sub>4</sub>, semble être en relation avec la nature lithologique (éboulis) de l'endroit.

La fréquence des espèces troglonexènes dans les différentes régions de la grotte correspond bien à ce que l'on attendait. Elle décroît assez rapidement à mesure que l'on s'éloigne de l'entrée.

Le cumul de nos appréciations (cf. tableau III) montre que certaines régions sont nettement plus favorables à la faune que d'autres. C'est le cas, par exemple, des zones 8 et 9 pour la faune troglobie, tandis que les zones 0, 2, 6 sont défavorables et la zone 5 très défavorable. Ici aussi, les causes de cet état de choses ne nous apparaissent pas clairement.

*c) Répartition chronologique*

À côté de l'aspect purement statique de la faune cavernicole tel que nous venons de le décrire, il est des plus intéressant d'en connaître l'aspect dynamique. En d'autres termes, il s'agit de

TABLEAU III  
Fréquence des espèces abondamment représentées selon les différentes  
régions de la grotte

Régions (cf. Plan II)	<i>Pseudosimulium</i>	<i>Arthropodites</i>	<i>Myochiturnus</i>	<i>Rogorella</i>	<i>Platycampa</i>	Phoridae	Opiliones *	<i>Microplegma</i> *	Cumul des 3 espèces trogllobies	Cumul des 3 espèces trogllobies et troglodéennes
0	--	--	0	--	--	XX	XXX	XXX	-----/0	XXXXXXXXXX
1	----	----	X	X	XX	--	--	0	-----/XXXX	-----/0
2	--	--	--	--	--	X	--	0	-----	--/X/0
3	--	--	XX	--	--	--	--	0	-----/XX	-----/0
4	--	--	XX	X	--	X	--	0	-----/XXX	--/X/0
5	----	----	--	--	--	--	--	0	-----	-----/0
6	--	--	--	--	--	--	--	0	-----	-----/0
7	--	--	--	--	X	--	X	----	-----/X	-----/X
8	XX	XXX	--	X	X	X	XX	XX	--/XXXXXXXXXX	XXXXXX
9	XXX	XX	X	X	XX	--	XX	XX	XXXXXXXXXXXX	-/XXXXX
10	XX	X	--	X	X	--	X	0	--/XXXXXX	--/X/0

Echelle des fréquences : xxx très fréquent = plus de 30 %    xx fréquent = de 20 à 30 %    x assez fréquent = de 10 à 20 %  
 - peu fréquent = de 5 à 10 %    -- rare = de 1 à 5 %    --- très rare = moins de 1 %  
 0 absent    Les % s'entendent par rapport au nombre total d'individus capturés.    \* = estimations.

définir les variations qualitatives et quantitatives présentées par la faune terrestre de notre grotte durant la période d'observation. GINET (1951) est l'un des rares auteurs à notre connaissance, qui ait effectué des recherches systématiques de quelque importance dans ce sens. Certes, on trouve bien ici et là dans la littérature des remarques concernant la présence ou la fréquence d'une espèce donnée suivant les saisons ou suivant les conditions variables du milieu souterrain. Mais très souvent ces indications ne sont pas étayées par un nombre suffisant d'observations pour être véritablement objectives, surtout en ce qui concerne les formes troglobies dont la biologie est dans l'ensemble mal connue.

Comme nous l'avons dit au chapitre I, page 327, nos fréquentes visites dans la Grotte du Chapeau de Napoléon et nos piégeages intensifs, ont eu certainement pour effet d'y perturber l'équilibre biologique qui y régnait auparavant. Dans quelle mesure au cours du temps, nous ne le savons pas et force est d'admettre que nos résultats ne nous donnent qu'un reflet plus ou moins déformé des phénomènes naturels.

#### *Variations qualitatives dans le temps.*

Elles affectent, comme prévu, uniquement les espèces non typiquement cavernicoles.

Parmi les troglaphiles, les Phoridés (cf. fig. 4, b) sont l'objet d'une périodicité saisonnière très nette, étant absentes ou très sporadiques pendant les mois d'hiver (janvier, février, mars), et bien représentées durant les autres saisons. Le décalage qui existe entre les dates de disparition totale respectivement d'apparition régulière de cette espèce dans la galerie d'accès d'une part, dans les régions de la grotte plus éloignées de l'entrée d'autre part, soulignent bien l'origine externe de cette espèce.

*Thelida atricornis* ne s'est, elle, rencontrée qu'au printemps (mai-juin) et en automne (septembre-octobre). *Eugamasus m. magnus* semble être présent à l'intérieur de la grotte surtout pendant la mauvaise saison. Mais le plus bel exemple de périodicité saisonnière est fourni sans aucun doute par les Araignées, les Trichoptères et les Opilions, les derniers remplaçant les précédents durant l'automne et l'hiver. La date de l'invasion massive de la grotte par les Opilions coïncide avec celle des premiers gels automnaux. C'est à cette époque-là de l'année (septembre-octobre),

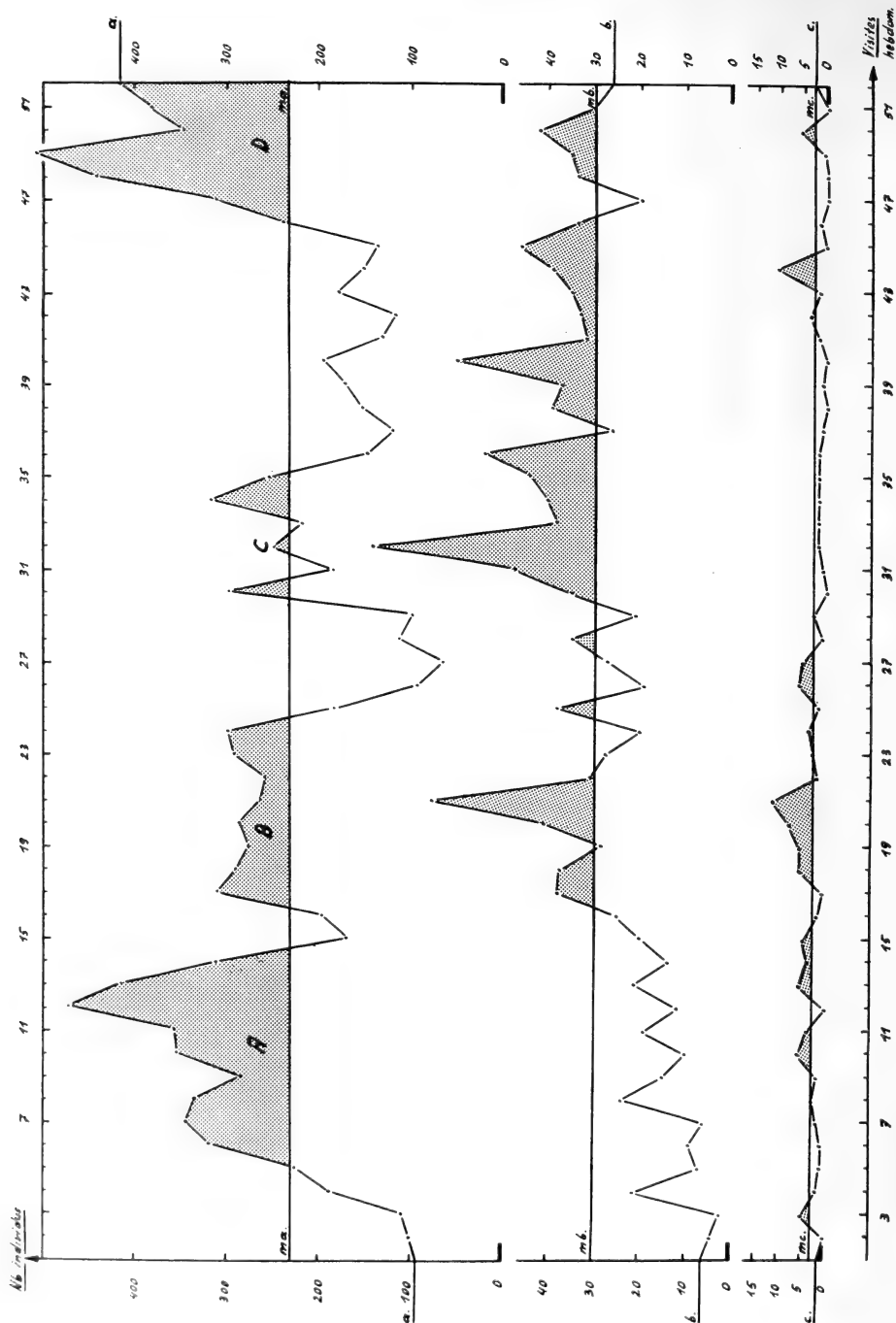


FIG. 3.

Piégeages des trois Collemboles troglobies: a, *Pseudosinella v. vandeli*; b, *Arrhopalites pygmaeus*; c, *Onychiurus h. handschini*; ma, mb, mc, moyennes annuelles des captures. 7, 11, 15, etc., changement général des appâts. En grisé, nombre de captures supérieur à la moyenne annuelle. A, B, C, D, voir texte p. 351.

qu'apparaissent d'ailleurs aussi le plus de formes troglloxènes dans la grotte.

La composition de la faune troglophile et troglloxène est donc en relation étroite avec l'alternance des saisons. Les quelques exemples énumérés sont suffisamment parlants pour nous dispenser d'entrer dans de plus amples détails.

*Variations quantitatives dans le temps.*

De nouveau, seules les espèces abondantes (5 troglobies, 1 troglophile) seront étudiées. La complexité des résultats nous oblige à les présenter de façon quelque peu schématique et pour chaque espèce séparément, avant d'entrer dans des considérations plus générales.

*Ensemble de la faune :* Les variations quantitatives dans le temps de l'ensemble des captures (total des captures sans distinction d'espèces) sont précisées par le graphique de la figure 2, a. Nous pouvons y distinguer 4 périodes d'inégale importance, pendant lesquelles les captures furent particulièrement abondantes. Ces périodes, que nous désignerons désormais pour simplifier par les lettres A, B, C et D, sont séparées l'une de l'autre par des laps de temps plus ou moins longs, allant de 2 à plus de 10 semaines. Les deux premières, soit A et B, sont comprises pendant l'été et une partie de l'automne 1961; la troisième (C) est à cheval sur les mois de décembre et janvier 1962, tandis que la quatrième (D) non terminée, débute au mois d'avril 1962. La période C est moins accusée et plus courte que les 3 autres. Le maximum d'abondance est atteint pendant la période D, avec près de 560 captures au cours d'une seule visite.

On peut se demander si les périodes A et B séparées par une faible et brève « dépression », ne doivent pas être envisagées comme faisant partie d'une même phase, la dépression n'étant qu'un « accident » sans grande signification. Tel n'est pas le cas, et le comportement de chaque espèce prise isolément, montrera qu'il s'agit bien de deux périodes distinctes.

*Pseudosinella* *cf. vandeli*: Cette espèce étant de beaucoup la plus abondante, il est évident qu'elle soit caractérisée par une courbe de piégeage très semblable à la courbe générale (cf. fig. 3, a).

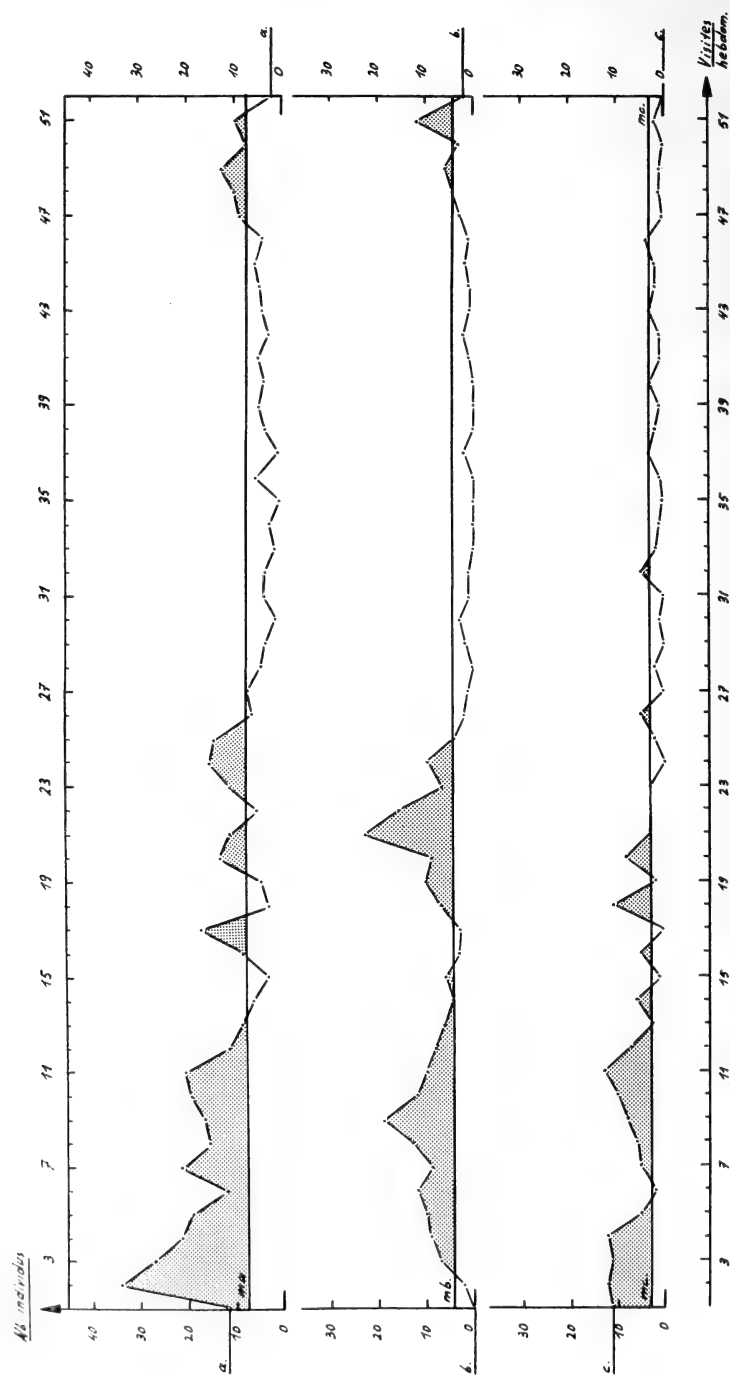


FIG. 4.

Pièges divers: a, *Rogerella villardi sermeti*; b, Phoridés; c, *Plusiocampa sollaudi*; ma, mb, mc, moyennes annuelles des captures. 3, 7, 11, etc., changement général des appâts. En grisé, nombre de captures supérieur à la moyenne annuelle.



Par rapport à cette dernière, la période D est légèrement mieux marquée.

Si l'on considère les courbes de la figure 6, on découvre que les 4 périodes d'abondance de *P. v. vandeli* ne se détachent clairement que dans deux cas (9 et 10), correspondant aux pièges situés dans la 1<sup>re</sup> salle et la galerie inférieure. Les deux séries de pièges 7 et 8 du bas de la galerie B, offrent des résultats beaucoup moins nets, tandis que partout ailleurs les totaux des captures par série varient sans parallélisme aucun entre eux ou avec les premiers cités.

*Arrhopalites pygmaeus*: il présente une courbe de piégeage (cf. fig. 3, b) beaucoup plus irrégulière que celle de *P. v. vandeli* et dont les multiples maxima sont nettement en relation avec l'état de décomposition de l'un des appâts (voir plus loin). Sur les 3 maxima particulièrement prononcés, 2 correspondent aux périodes B et C des courbes définies ci-avant, le troisième à un maximum secondaire de ces mêmes courbes. Il existe donc un parallélisme entre la fréquence de *P. v. vandeli* et celle d'*A. pygmaeus*, mais il n'est pas très évident.

Au cours de nos recherches, le nombre moyen des captures d'*A. pygmaeus* a sensiblement augmenté, pour atteindre après 5 semaines environ le double de ce qu'il était au début.

*Onychiurus h. handschini*, relativement très peu abondant, est plus fréquent par moments qu'à d'autres (cf. fig. 3, c). Sa courbe de piégeage possède un maximum qui correspond à la période B, et très exactement au premier grand maximum de la courbe d'*A. pygmaeus*. Durant les mois de décembre 1961, janvier et février 1962, le nombre des captures est particulièrement faible et peu variable.

*Plusiocampa sollaudi* (cf. fig. 4, c) est, en moyenne, nettement plus abondant pendant les 5 premiers mois de piégeages que par la suite. Les périodes A et B sont reconnaissables à la rigueur, mais estompées par le nombre toujours plus faible d'individus capturés.

*Royerella villardi sermeti* (cf. fig. 4, a) offre une courbe de piégeage plus facile à interpréter, avec une période A très bien marquée quoique plus précoce que chez *P. v. vandeli*, une période B moins stable, et une période D évidente mais de faible importance. De décembre 1961 à avril 1962, les *Royerella* sont rares et en nombre

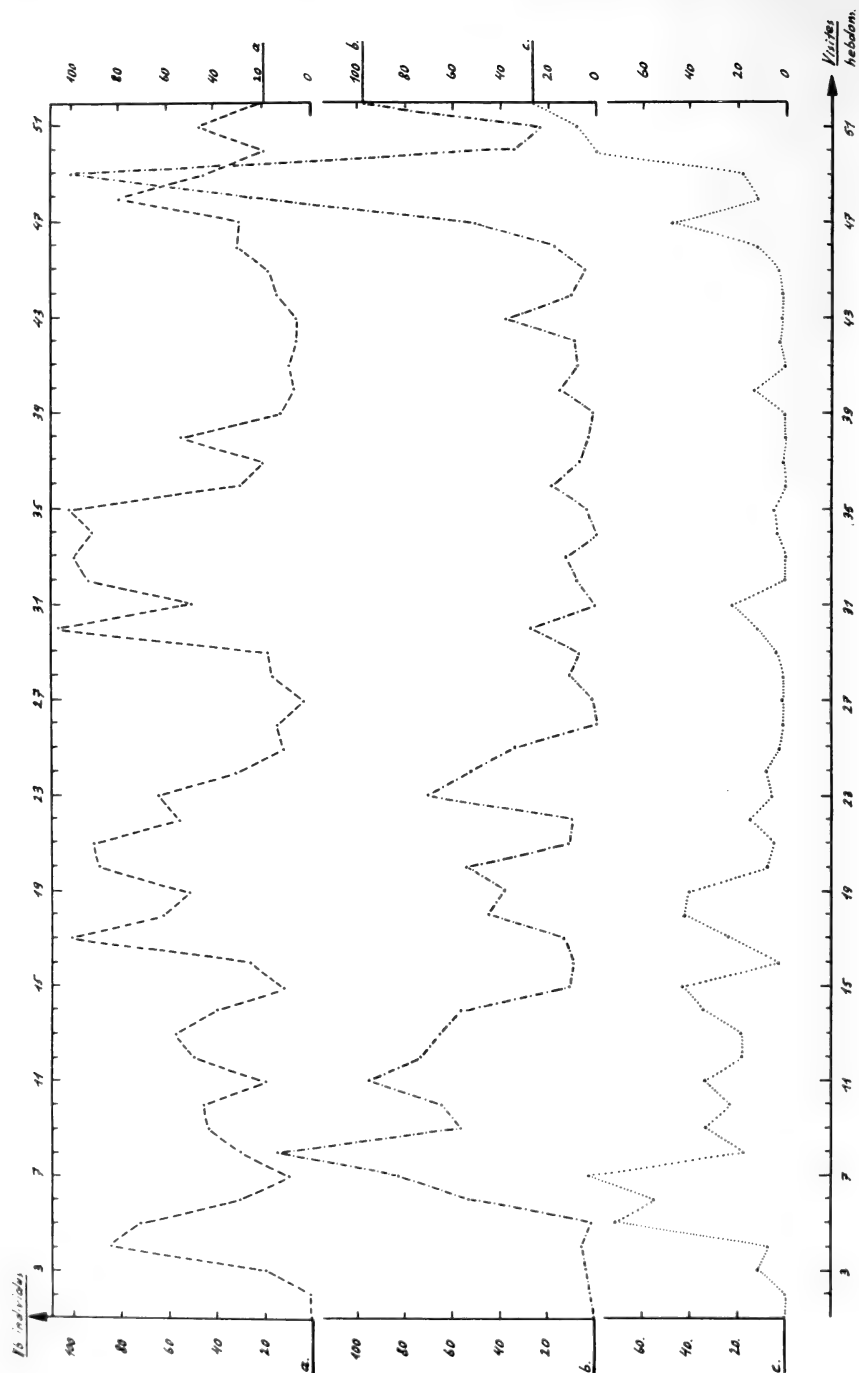


FIG. 5.

Piégeages de *Pseudosinella v. vandeli*: répartition des captures suivant les trois pièges de la série 9. 3, 7, 11, etc., changement général des appâts; a, piège n° 1 appât pomme; b, piège n° 2 appât viande; c, piège n° 3 appât fromage.

nettement inférieur à la moyenne annuelle. Ici aussi, il semble qu'il y a un épuisement de la population au cours du temps, mais seule une prolongation de nos piégeages aurait pu le prouver.

La présence des Phoridés est caractérisée par une périodicité saisonnière ainsi qu'il l'a été dit plus haut. Toutefois, leur abondance dans la grotte durant la belle saison est sujette à des variations sensibles. La courbe de piégeage (cf. fig. 4, b) permet ainsi de distinguer 3 périodes d'abondance distinctes, correspondant aux périodes A, B et D des espèces précédentes.

*Discussion:* De l'ensemble des faits exposés ci-dessus, se dégagent quatre constatations essentielles:

- 1) La faune troglobie est l'objet de variations quantitatives importantes dans le temps, et ceci est valable pour les 5 espèces typiquement cavernicoles étudiées.
- 2) L'unique espèce troglophile envisageable subit également des variations quantitatives pendant sa période de présence régulière dans la caverne.
- 3) Les principales variations quantitatives de chacune des composantes troglobies et de la composante troglophile sont, dans les grandes lignes, synchrones, pour autant qu'elles existent et soient mises en évidence par un nombre suffisant de captures.
- 4) Trois espèces (*A. pygmaeus*, *R. villardi*, *P. sollaudi*) semblent avoir été influencées de façon sensible par nos piégeages intensifs, dans un sens (prolifération chez *A. pygmaeus*) ou dans l'autre (appauvrissement chez *R. villardi* et *P. sollaudi*).

Du point de vue purement statistique, on peut critiquer certaines de nos déductions. De fait, dans les courbes envisagées (cf. fig. 2, a; 3, a, b et c; 4, a, b et c, et 6) nous utilisons des données non homogènes, chaque courbe cumulant les résultats de captures effectuées à l'aide de 3 appâts différents dont le pouvoir attractif n'était pas constant d'un piégeage à l'autre. Rappelons en effet, que les renouvellements d'appâts n'eurent lieu que toutes les 2 (viande) ou 4 (pomme et fromage) semaines. Les courbes des figures 2, b, c, d, et 5, a, b, c, sont ainsi dissemblables entre elles et au surplus assez différentes des courbes générales. Cependant, un examen plus approfondi montre que les décalages de 1 à 3 semaines existants entre les maxima accusés, ou les minima,

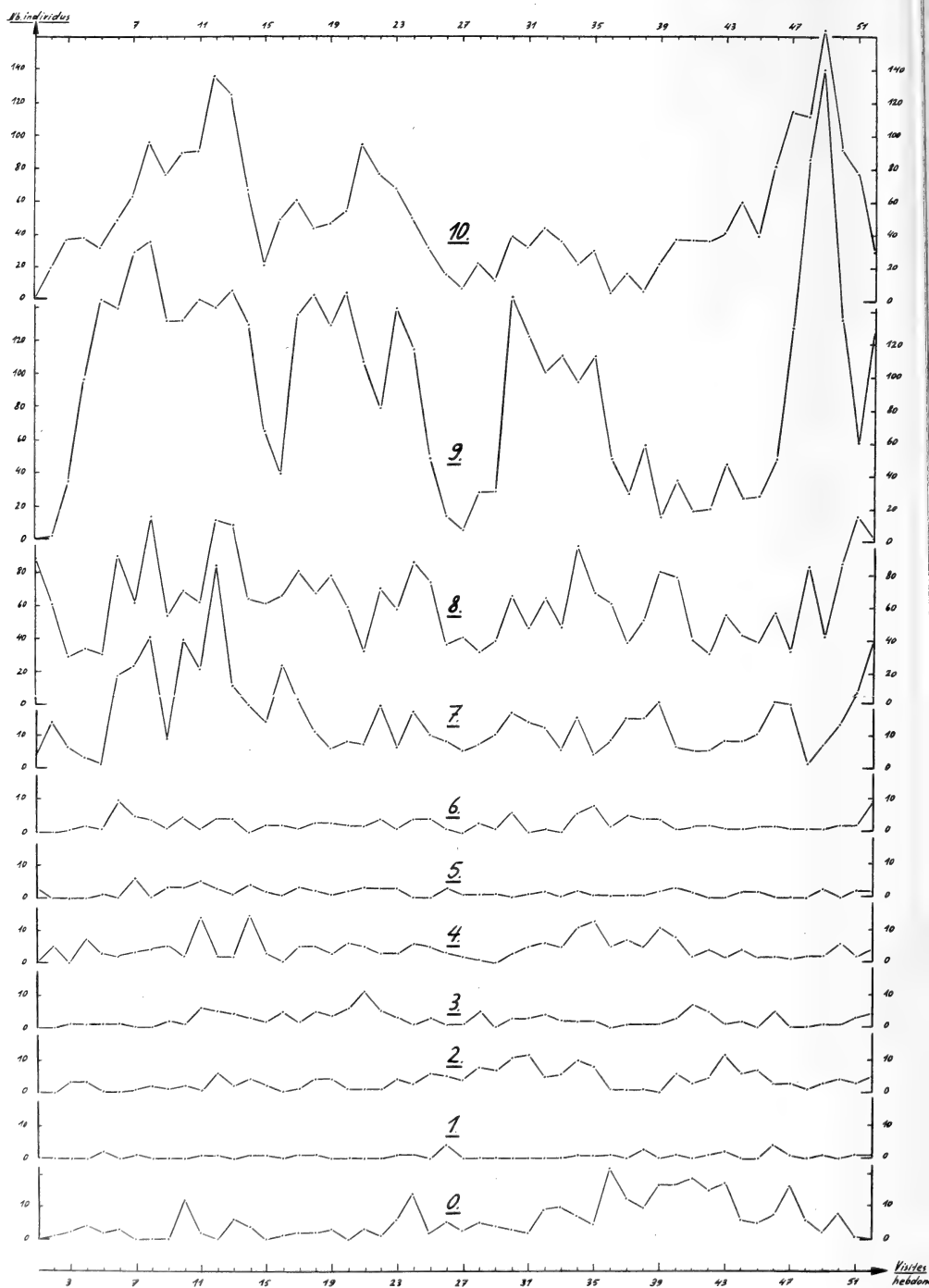


FIG. 6.

Piégeages de *Pseudosinella v. vandeli*: répartition des captures suivant les dix séries de pièges (n° 1 à 10) et le piège de contrôle (n° 0). 3, 7, 11, etc., changement général des appâts.

sont dûs en grande partie à des effets d'interférence entre les 3 appâts utilisés. Le pouvoir attractif de la viande est maximum après une semaine, celui de la pomme au bout de 2 semaines environ et celui du fromage après 4 semaines seulement (cf. fig. 5 par exemple). Il en résulte que très souvent un maximum de captures

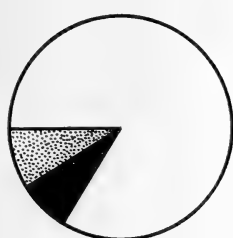
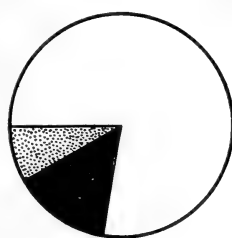
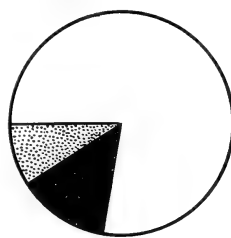
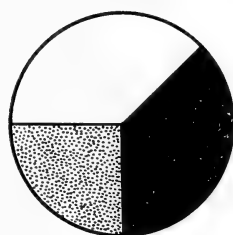
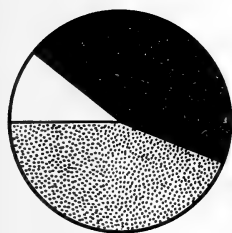
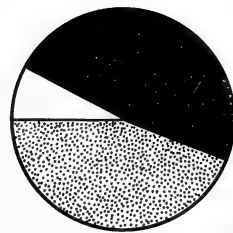
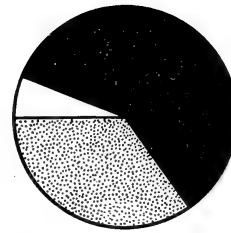
OpilionesOnychiurus handschiniArrhopalites pigmaeusPseudosinella v. vandeliPlusiocampa sollaudiRoyerella villardisermetiPhoridae

FIG. 7.

Attirance sélective des appâts chez les espèces les plus fréquentes: blanc, pomme; noir, viande; pointillé, fromage. La surface des secteurs est proportionnelle au nombre d'individus capturés dans chaque cas.

pour un appât coïncide avec des minima pour les deux autres. L'irrégularité et la dissemblance apparente des courbes de piégeages n'ont pas d'autres causes, et elles s'expliquent parfaitement bien de cette façon. En définitive, les 3 pièges d'une même série étant toujours situés très près l'un de l'autre, on peut admettre que le nombre total des animaux capturés à l'aide de ceux-ci chaque semaine, donne une indication parfaitement valable sur la densité de la faune dans une région donnée, et, à plus longue échéance, sur ses variations quantitatives. Mais il est tout aussi évident que l'emploi d'un seul appât, de qualité si possible constante au cours du temps, serait souhaitable et faciliterait considérablement l'interprétation des résultats.

Il est intéressant de remarquer que la période d'abondance C ne concerne que *P. v. vandeli* et *A. pygmaeus*. Chez la première de ces espèces, on voit (cf. fig. 5) que seul un appât en est responsable (pomme), contrairement à ce qui s'observe au cours des périodes A, B et D, où les deux autres appâts (viande et fromage) attirèrent la majorité des animaux.

Quant à l'origine des variations quantitatives mises en évidence, nous ne sommes pas en mesure de l'expliquer. Il semble bien qu'il s'agisse d'un phénomène général répondant à une cause commune, mais force est de constater à nouveau que seules des recherches de longue durée et dans plusieurs grottes simultanément permettraient de sortir du domaine de l'hypothèse. On peut être tenté évidemment de voir, chez *R. villardi* en particulier, une sorte de rythme saisonnier comparable à celui des Phoridés. Rien toutefois ne le prouve et il peut n'y avoir là, qu'une convergence purement accidentelle. Le « climat » de la grotte étant très homogène et très stable, il paraît à peu près exclu qu'il ait une influence notable sur la faune. Le seul facteur météorologique externe qui ait des répercussions sensibles dans le milieu souterrain considéré, n'intervient en tout cas pas directement. En effet, entre l'importance des précipitations ou le ruissellement qui en résulte à l'intérieur de la grotte, et le nombre des captures, il n'existe aucune relation évidente de cause à effet. Enfin, les déplacements d'air quoique très craints par les animaux cavernicoles et sujets à des fluctuations plus ou moins nettes à certains endroits de la Grotte du Chapeau de Napoléon (cf. p. 325), ils ne nous semblent de loin pas suffisants dans la partie supérieure du réseau pour jouer un rôle important. Il est vrai

qu'ils permettraient peut-être de comprendre pourquoi les variations quantitatives des captures de *P. v. vandeli* sont beaucoup plus nettes dans la galerie inférieure et la 1<sup>re</sup> salle que dans la galerie B, où l'atmosphère est de toute évidence absolument calme.

#### d) *Attrance sélective des appâts*

L'emploi systématique de 3 appâts de nature différente a permis de préciser les préférences alimentaires des 7 espèces les plus souvent rencontrées. Dans le tableau ci-dessous, le nombre d'individus attirés par chaque type d'appât est exprimé en % du nombre total de captures de l'espèce considérée dans les pièges des séries 1 à 10.

TABLEAU IV

*Attrance sélective des appâts (cf. aussi fig. 7)*

Espèces	Appâts		
	Pomme	Viande	Fromage
Opilions . . . . .	84%	7%	9%
<i>Onychiurus h. handschini</i> . . .	78%	14%	8%
<i>Arrhopalites pygmaeus</i> . . . .	78%	13%	9%
<i>Pseudosinella v. vandeli</i> . . . .	40%	37%	23%
<i>Plusiocampa sollaudi</i> . . . . .	11%	45%	44%
<i>Royerella villardi sermeti</i> . . .	8%	48%	44%
Phoridés . . . . .	6%	65%	29%

Deux groupes d'espèces s'opposant nettement peuvent être distingués. Dans le premier nous trouvons *A. pygmaeus*, *O. handschini* et les Opilions, intéressés avant tout par l'appât végétal (pomme). Dans le second, les Phoridés, *R. villardi* et *P. sollaudi* marquent au contraire une nette préférence à l'égard des appâts d'origine animale (viande et fromage). *P. vandeli* représente un cas intermédiaire, puisqu'il est attiré presque autant par la viande que par la pomme, et qu'il ne dédaigne pas non plus le fromage.

## CHAPITRE IV

DESCRIPTION DE LA LARVE DE *ROYERELLA VILLARDI*  
*SERMETI* JEANNEL (COLEOPTERA)

En cours de travail, nous avons eu la chance de recueillir dans nos pièges 3 exemplaires d'une larve de Staphylinoidea (Coleoptera) non encore décrite dans la littérature. M. Claude Besuchet (Muséum d'Histoire naturelle de Genève), qui a examiné la première de ces captures, nous a, par ses conseils et son aide, permis d'entreprendre nous-même la dissection et la description de cette larve. Nous lui réitérons ici nos remerciements.

Bien que n'ayant pu le prouver par l'élevage, que ce soit à partir d'une de ces larves (les 3 exemplaires ont été reconnus en laboratoire seulement, dans du matériel déjà fixé), ou à partir de l'imago, nous pensons qu'il ne peut s'agir que de larves de *Royerella villardi sermeti* Jeannel, le seul coléoptère pouvant entrer en ligne de compte parmi ceux fréquentant la Grotte du Chapeau de Napoléon. L'ensemble des caractères observés permet en tout cas d'affirmer qu'elles appartiennent bien, tout comme les *Royerella*, à la famille des Catopidae (cf. BÖVING et CRAIGHEAD 1931, PAULIAN 1941), et plus précisément à la sous-famille des Bathysciinae (cf. JEANNEL 1911 et 1924). Aucune larve de *Royerella* n'est encore connue. Cependant, CAPRA (1924) et plus tard BRASAVOLA DE MASSA (1931) ont décrit et figuré la larve d'une espèce d'un genre très voisin, espèce qui a même été rattachée au genre *Royerella* lors de sa description, mais qui en a été séparée par la suite (cf. CAPRA et CONCI 1951): *Dellabeffaella roccai* Capra. La morphologie de la larve de cette espèce est très voisine de celles que nous avons examinées et que nous décrivons ci-dessous.

Les larves en question ont été toutes trois capturées au même endroit dans la grotte (zone 9, boyau latéral), à une semaine d'intervalle l'une de l'autre, soit successivement les 16, 23 et 30 janvier 1962. A cet endroit, mais en dehors des pièges et sur un espace très restreint, nous avons observé les 31 octobre et 7 novembre 1961, de très nombreux *Royerella* adultes se déplaçant en tous sens et en proie à une agitation inhabituelle. Nous y avons prélevé vivants,



28 individus, qui déployèrent une forte activité sexuelle pendant les deux premières semaines de leur captivité en laboratoire. La ponte suivant de près la copulation (PAULIAN 1941), on peut supposer que les 3 larves découvertes en janvier 1962 sont issues d'œufs pondus en octobre ou novembre 1961. Dans ce cas, elles seraient âgées donc de deux à trois mois, ce qui correspond à une durée de vie larvaire assez normale pour un Bathysciiné de ce type (cf. GLAÇON 1955).

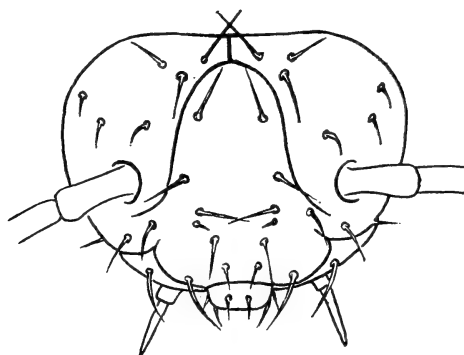


FIG. 8.

Larve de *Royerella villardi sermeti* Jeann. (n° 36.92): chétotaxie de la tête (vue dorsale).

Enfin, ces larves sont, semble-t-il, saprophages. Deux d'entre elles ont été attirées en effet par des fragments de viande, la troisième au contraire par un morceau de pomme.

#### *Morphologie larvaire.*

Longueur tête-pseudopode (soies non comprises) des trois exemplaires capturés: 2,5, 3,5 et 3,6 mm.

Larve allongée, campodéiforme, à corps légèrement convexe, nettement plus rétréci en arrière qu'en avant (fig. 9 et 10).

Téguments complexes, peu chitinisés, rarement lisses; ils sont finement spinulosés, granuleux, ou recouverts d'écailles simples à bord arrondi, acuminé, festonné, frangé, ou d'écailles composées sous forme de crêtes denticulées plus ou moins longues et étroites (fig. 12, d et 12, f). Macrochètes de deux types, simples ou cupuliformes à surface cannelée, ces derniers uniquement localisés sur la face tergale du corps (fig. 12, e).

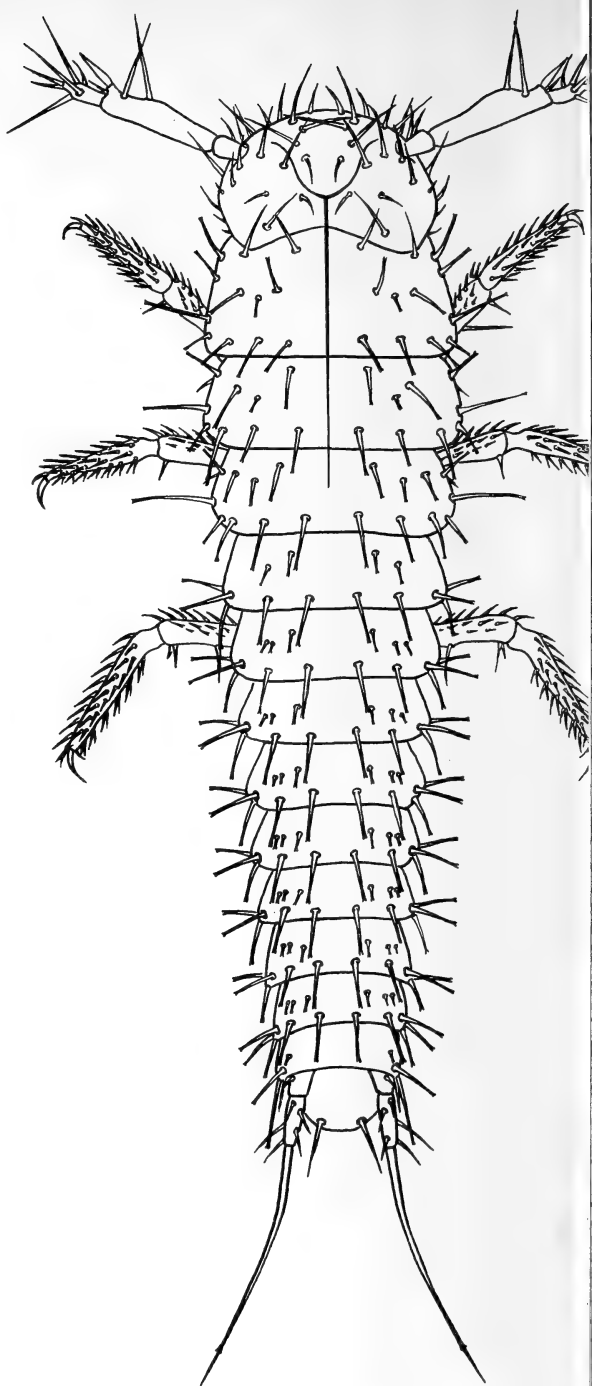
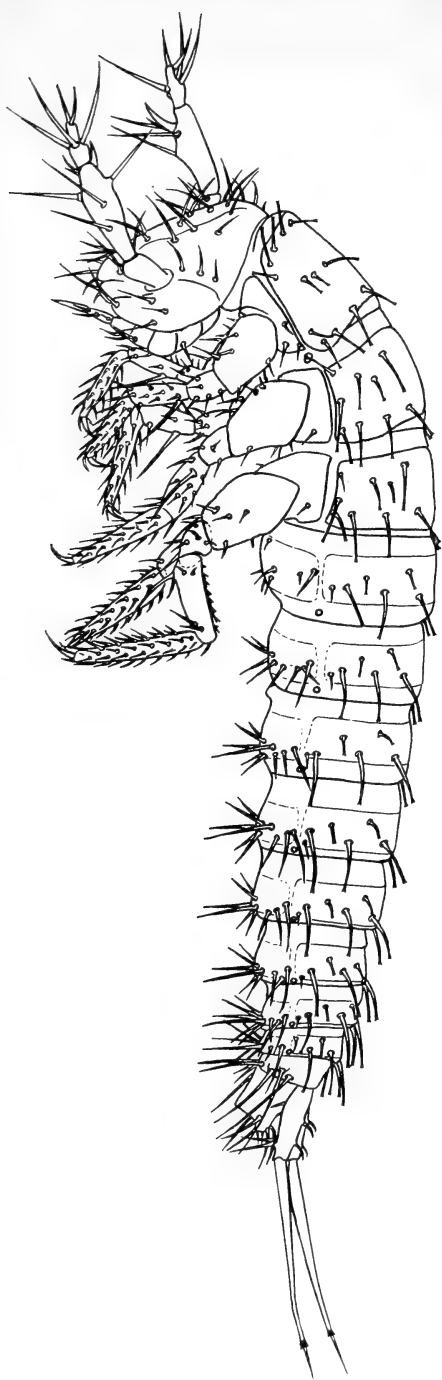


FIG. 9.

Larve de *Royerella villardi sermeti* Jeann. (n° 35.92): vue latérale, légèrement de trois-quarts. Les contours des sclérites sont en grande partie supposés sur notre dessin.

FIG. 10.

Larve de *Royerella villardi sermeti* Jeann. (n° 37.92): vue dorsale. Les tergites, indistincts, ne sont pas indiqués.

Coloration brune claire de la tête; corps blanchâtre sur sa face sternale, jaune sale sur le dos; les derniers segments abdominaux sont nettement plus foncés que la partie antérieure de l'abdomen et le thorax, leur couleur variant du jaune-brun au brun clair.

Tête arrondie, fortement inclinée vers le bas, ce qui, si l'on examine la larve de dos, lui confère une allure transverse (fig. 9). En réalité, elle est presque aussi longue que large (fig. 8). Pas de rétrécissement collaire dans la partie postérieure. Microsculpture formée d'écailles de divers types (fig. 12, f). Aire ensiforme arrondie en arrière, atteignant la base de la tête. Suture épiceraniale courte, prolongée par une ligne dorsale très nette jusqu'au milieu du dernier segment thoracique. Suture gulaire courte, indistincte. Ocelles nuls. Labre (fig. 11, d et e) articulé, transverse, arrondi aux angles et en avant, portant sur sa face antérieure 2 pores sensoriels et 10 macrochètes, dont 6 alignés sur le rebord distal; sur la face postérieure, disposés en une ligne marginale régulière, 3 paires de macrochètes et 4 organes claviformes; en arrière de ceux-ci, 2 papilles sensorielles. Epipharynx (fig. 11, e) bordé latéralement de très fins poils en files parallèles, avec 5 paires de papilles sensorielles, 3 d'entre elles constituant une rangée transverse médiane, et un massif fortement pubescent, allongé et rétréci progressivement vers l'arrière.

Antennes (fig. 11, a et b) de trois articles. Premier article à peine tronc-conique, plus long que large, en partie couvert de spinules, portant un macrochète et 5 pores sensoriels. Second article deux fois et demi plus long que le premier, irrégulièrement renflé dans sa moitié distale du côté antérieur, spinulé dans sa partie basale, portant 5 macrochètes, un pore sensoriel et deux vésicules hyalines préapicales de tailles très différentes. Troisième article un peu moins long que le premier, portant quelques spinules sur sa face dorsale, 4 macrochètes et un pore sensoriel, terminé enfin par deux vésicules hyalines dont l'une est apicale et l'autre, plus petite et plus effilée, latérale. Antennifère présent, normalement développé.

Mandibules (fig. 11, c) bidentées à l'apex, la dent principale portant en outre dorsalement 3 petites cuspides obtuses alignées d'avant en arrière. La mandibule droite ne diffère de la gauche, que par un développement moindre de ces cuspides accessoires. Face dorsale en courbe régulière avec un macrochète en son milieu, et un

pore sensoriel; face ventrale portant un volumineux macrochète. Côté rostral, une prostheca forte, simple et aiguë, suivie d'une mola très importante portant en haut de nombreuses petites dents disposées en plusieurs rangées obliques et parallèles, remplacées progressivement vers le bas par des crêtes continues finement denticulées.

Maxilles (fig. 11, f) assez longues et fortes. Cardo court, transverse. Stipe deux fois plus long que large, à peine plus étroit dans sa partie distale qu'à sa base, portant 3 macrochètes et un pore sensoriel. Lacinia de même longueur que le palpe, robuste, s'aminçant régulièrement en direction de l'apex qui est bifide et constitué d'une pointe obtuse et d'un crochet peu marqué, avec 5 fortes épines et une fine pubescence sur sa marge rostrale en plus de 2 macrochètes ventraux. Galéa bifrangée. Palpifère bien développé, prolongé par un palpe maxillaire triarticulé; premier article aussi long que large, avec un pore sensoriel ventral; second article un peu plus long et plus étroit que le précédent, légèrement pubescent comme celui-ci sur sa face rostrale et présentant 2 macrochètes et un pore sensoriel; troisième article aussi long que les deux premiers réunis, étroit, accompagné à sa base du côté dorsal d'un petit organe hyalin en tube.

Labium (fig. 11, g) à ligule large et courte, très légèrement bilobée à l'apex, terminée par une couronne de poils et présentant 2 soies latérales réduites ainsi qu'une paire de pores sensoriels sur sa face antérieure. Paraglosses présentes avec une soie unique très courte à l'apex. Palpe labial formé de 2 articles dépassant de peu la ligule; premier article deux fois plus long que large, couvert partiellement de poils épars, avec un pore sensoriel sur la face interne; deuxième article deux fois moins long et moins large que le premier, avec un pore sensoriel latéral et un apex arrondi portant de petits cônes sensoriels. Prémentum transverse, droit sur son bord antérieur, avec ventralement 2 paires de macrochètes et une paire de pores sensoriels. Mentum grossièrement trapézoïdal, portant une paire de grandes soies et 4 pores sensoriels.

Segments thoraciques tous plus larges que longs, le mésothorax étant de largeur à peine supérieure à celle des deux autres; méso- et métathorax de longueur semblable, nettement plus courts que le prothorax. Stigmate mésothoracique situé à la marge antérieure du segment. Chétotaxie identique sur les deux derniers segments

thoraciques (fig. 9 et 12, b). Microsculpture de la face tergale formée de ponctuations, d'écailles et de crêtes denticulées (fig. 12, b et d).

Pattes (fig. 12, a) semblables mais augmentant légèrement de taille d'avant en arrière, constituées de 5 articles; macrochètes

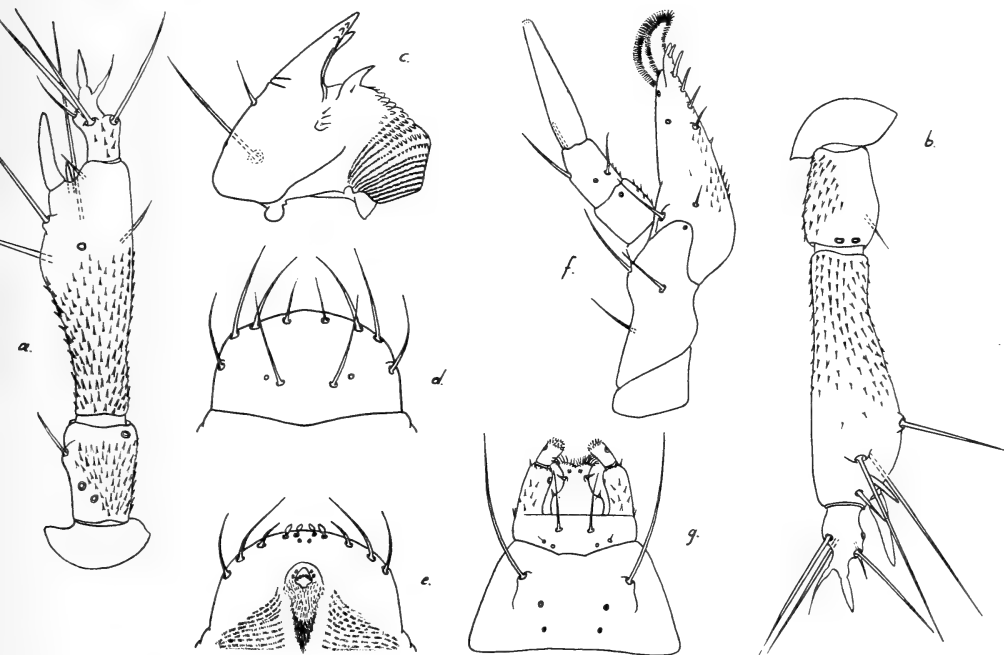


FIG. 11.

Larve de *Royerella villardi sermeti* Jeann. (n° 36.92): a, antenne droite, face dorsale; b, antenne gauche, face latéro-ventrale; c, mandibule gauche, face dorsale; d, labre, face dorsale; e, labre et épipharynx, face ventrale; f, maxille droite, face ventrale; g, labium, face ventrale. Tous les éléments de la figure sont dessinés à la même échelle.

sur les cinq articles, dont les 4 premiers sont en outre finement pubescents par endroits. Hanche deux fois plus longue que large; trochanter très court; fémur près de trois fois plus long que le trochanter, avec ventralement, à son extrémité proximale, un macrochète de grande taille. Tibia aussi long que les deux articles précédents réunis, portant de très nombreux macrochètes. Griffe forte, cannelée dans sa partie moyenne, les cannelures s'anastomosant dans la région proximale où sont implantées 2 fortes soies respectivement ventrale et dorsale.

Abdomen comptant 10 segments, dont les 9 premiers diminuent régulièrement de longueur et de largeur d'avant en arrière. Sclérites indistincts aussi bien sur la face sternale que tergale. Chétotaxie (fig. 12, c) semblable sur les segments I à VIII; macrochètes disposés sur toute la surface des tergites, sur la marge postérieure seulement des sternites. Microsculpture formée de granulations et de poils très courts. Stigmates abdominaux au nombre de 8 paires, localisés sur le bord postérieur des 8 premiers segments. Segment IX prolongé par deux urogomphes biarticulés, avec un premier

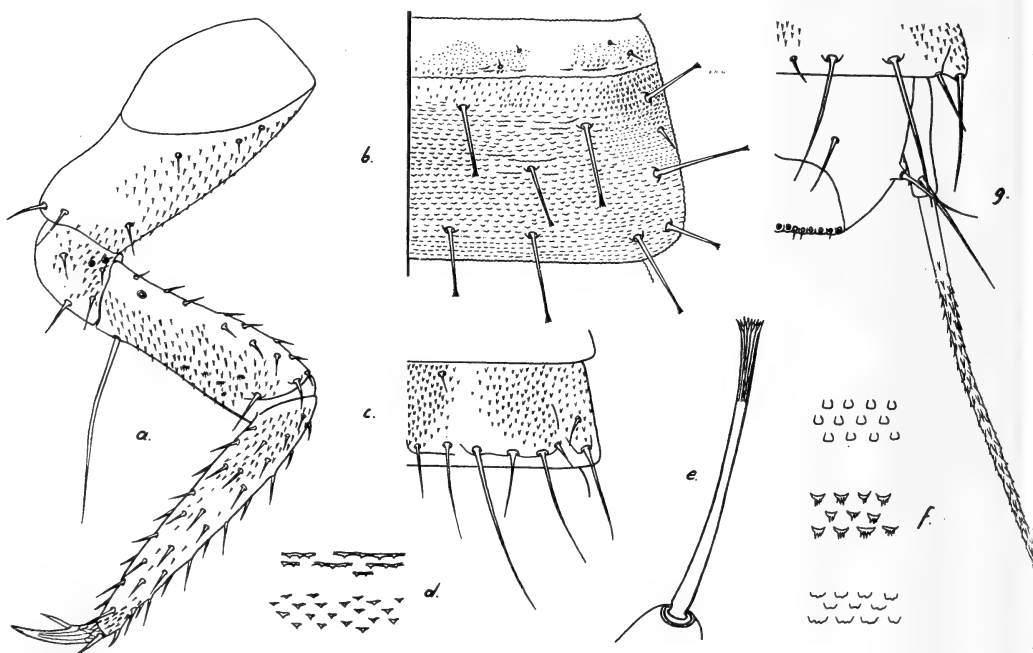


FIG. 12.

Larve de *Royerella villardi sermeti* Jeann. (n° 36.92): a, patte intermédiaire droite; b, chétotaxie du mésothorax, face dorsale, moitié droite; c, chétotaxie du IV<sup>e</sup> segment abdominal, face ventrale, moitié gauche; d, microsculpture de la face tergale du thorax; e, macrochètes cupuliformes de la face tergale; f, divers types d'écailles du crâne; g, segments abdominaux IX et X, face ventrale. Les éléments a, b, c et g sont dessinés à la même échelle.

article portant 4 macrochètes; un second article presque quatre fois plus long que le précédent, terminé par une courte soie et recouvert, sauf dans sa région proximale, d'écailles allongées et acuminées

(fig. 12, g). Pseudopode anal bien développé, plus long que les derniers segments abdominaux, arrondi puis droit à l'apex, portant 3 paires de macrochètes.

Les préparations microscopiques justificatives de la description ci-dessus sont déposées à l'Institut de Zoologie de l'Université de Neuchâtel. Les deux larves non disséquées ont été remises au Muséum d'Histoire naturelle de Genève.

## RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Nos recherches ont établi l'existence dans la Grotte du Chapeau de Napoléon, d'une faune riche d'au moins 39 espèces, dont 7 sont des troglobies stricts. Quinze autres espèces ont été recueillies sous forme de restes divers (coquilles, ossements). En outre, la larve encore inconnue d'un Coléoptère Bathysiinae cavernicole fut découverte et a fait l'objet d'une description détaillée.

À l'aide de piégeages hebdomadaires, nous avons mis en évidence la répartition quantitative, topographique et chronologique de la faune. La grande homogénéité du milieu souterrain envisagé, ne nous a pas permis de découvrir les relations certaines existant entre celui-ci et les particularités de la faune. Les variations quantitatives de cette dernière, demeurent notamment sans explication satisfaisante.

Dans son ensemble, la présente étude s'est révélée beaucoup plus fructueuse que nous ne l'attendions, même si la plupart des nombreuses questions qu'elle a soulevées n'ont pas été résolues. Son seul et modeste mérite est peut-être justement de nous avoir fait entrevoir la complexité des problèmes qui se posent dans un milieu pourtant bien délimité. Les résultats acquis justifieraient sans nul doute de nouvelles recherches, dans un cadre plus large et à l'aide de méthodes différentes.

## ZUSAMMENFASSUNG

In der « Grotte du Chapeau de Napoléon » (Neuenburger Jura) wurden 39 Tierarten nachgewiesen, worunter 7 Trogllobionten, ferner Reste von 15 anderen Arten (Schalen, Knochen). Eine bisher unbeschriebene Larve eines Höhlenkäfers (Bathysiinae) wird genau untersucht.

Das Ergebnis während eines Jahres allwöchentlich geleerter Fallen gibt eine Übersicht über die quantitative Verteilung der Fauna in Raum und Zeit. Für eine befriedigende Erklärung dieser Verteilung wären weitere Forschungen erforderlich.

## SUMMARY

39 species of animals were observed in the « Grotte du Chapeau de Napoléon » (Neuchâtel Jura) of which 7 were troglobionts. There occurred also the remains of 15 other species (shells, bones). An hitherto undescribed larva of a cave coleopteron (*Bathysiinae*) has been studied.

The results obtained in one year from visiting weekly the traps gives a quantitative distribution of the fauna both in space and in time. Further research is required in order to obtain a satisfactory interpretation of this distribution.

## BIBLIOGRAPHIE SOMMAIRE

- AELLEN, V. 1949. *Les chauves-souris du Jura neuchâtelois et leurs migrations*. Bull. Soc. neuchâtel. Sci. nat. 72: 23-90.
- 1952. *La faune de la grotte de Moron (Jura suisse)*. Bull. Soc. neuchâtel. Sci. nat. 75: 139-151.
- et STRINATI, P. 1962. *Nouveaux matériaux pour une faune cavernicole de la Suisse*. Rev. suisse Zool. 69: 25-66.
- AUDÉTAT, M. 1962. *Essai de classification des cavernes de Suisse*. Stalactite (Org. Soc. suisse Spéléol.) 5 (7): 251-300.
- BÖVING, A. G. et CRAIGHEAD, F. C. 1931. *An illustrated synopsis of the principal larval forms of the order Coleoptera*. Ent. Amer., Brooklyn 11 (1930-31): 1-351.
- BRASAVOLA DE MASSA, A. 1931. *Note sulle larve dei generi Neobathyscia Müll. e Royerella Jeann.* LVIII Pubbl. Soc. Mus. civ. Rovereto: 13-14.
- BURGER, A. 1959. *Hydrogéologie du bassin de l'Areuse*. Bull. Soc. neuchâtel. Géogr. 52: 5-304.
- CAPRA, F. 1924. *Sulla fauna della Grotta del Pugnello in Val di Lanzo*. Atti Accad. Sci. Torino 59: 153-161.
- et C. CONCI. 1951. *Nota sulle grotte del Pugnello in val di Lanzo e sulla loro fauna (Piemonte)*. Rass. speleol. ital. 3 (3): 73-76.



- CAUMARTIN, V. et P. RENAULT. 1958. *La corrosion bio-chimique dans un réseau karstique et la genèse du mond-milch*. Notes biospéol. 13: 87-109.
- COOREMAN, J. 1954. *Notes sur quelques Acariens de la faune cavernicole*. Bull. Inst. Sci. nat. Belg. 30 (34): 1-19.
- DEROUET, L. et DRESKO, E. 1955. *Etudes sur la grotte de Pèneblanque. I. Faune et Climats*. Notes biospéol. 10: 123-131.
- GINET, R. 1951. *Etude écologique de la grotte de la Balme (Isère)*. Bull. biol. France-Belg. 85: 422-447.
- 1952. *La grotte de La Balme (Isère); topographie et faune*. Bull. Soc. linn. Lyon 21 (1): 4-17; (2): 27-30.
- 1953. *Faune cavernicole du Jura méridional et des Chaînes Subalpines dauphinoises. I. Crustacés aquatiques*. Notes biospéol. 8: 185-198.
- 1955. *Études sur la biologie d'Amphipodes troglobies du genre « Niphargus ». I. Le creusement de terriers; relations avec le limon argileux*. Bull. Soc. zool. Fr. 80: 332-349.
- 1960. *Ecologie, éthologie et biologie de « Niphargus » (Amphipodes Gammaridés hypogés)*. Ann. Spéléol. 15: 127-376.
- GISIN, H. 1960a. *Collembolenfauna Europas*. Genève, 312 p.
- 1960b. *Collemboles cavernicoles de la Suisse, du Jura français, de la Haute-Savoie et de la Bourgogne*. Rev. suisse Zool. 67: 81-99.
- GLAÇON, S. 1955. *Remarques sur la morphologie et la biologie de quelques larves de Bathysciinae cavernicoles*. C. R. Acad. Sci. Paris 240 (6): 679-681.
- JEANNEL, R. 1911. *Revision des Bathysciinae (Coléoptères Silphides). Morphologie, distribution géographique, systématique*. Biospeologica XIX. Arch. Zool. exp. gén. Paris (5) 7: 1-641.
- 1924. *Monographie des Bathysciinae*. Biospeologica L. Arch. Zool. exp. gén. Paris 63: 1-436.
- 1926. *Faune cavernicole de la France avec une étude des conditions d'existence dans le domaine souterrain*. Encycl. ent. Paris A 7: 334 p.
- 1943. *Les fossiles vivants des cavernes*. Paris, 321 p.
- 1955. *Répartition du Royerella villardi Bedel dans le Jura (Coleoptera Bathysciitae)*. Notes biospéol. 10: 23-26.
- MATILE, L. 1962. *Contribution à l'étude de la faune cavernicole de la Suisse. Diptères*. Mitt. schweiz. ent. Ges. 35: 121-130.
- PAULIAN, R. 1941. *Les premiers états des Staphyloidea (Coleoptera). Étude de morphologie comparée*. Mém. Mus. Hist. nat. Paris, 15: 1-361.
- QUARTIER-LA-TENTE, E. 1895. *Le canton de Neuchâtel. 3<sup>e</sup> série: Le Val-de-Travers*. Neuchâtel, 818 p.

- RICKENBACH, E. 1926. *Description géologique du territoire compris dans les feuilles 278 et 280 de l'atlas topographique de Siegfried, savoir du Val-de-Travers entre Fleurier et Travers, du cirque de Saint-Sulpice et de la vallée de la Brévine.* Bull. Soc. neuchâtel. Sci. nat. 50: 1-76.
- STRINATI, P. 1955. *La faune de la grotte de Pertuis (Jura neuchâtelois).* Bull. Soc. neuchâtel. Sci. nat. 78: 5-16.
- WEBER, H. 1933. *Lehrbuch der Entomologie.* Jena VII + 726 p.
-

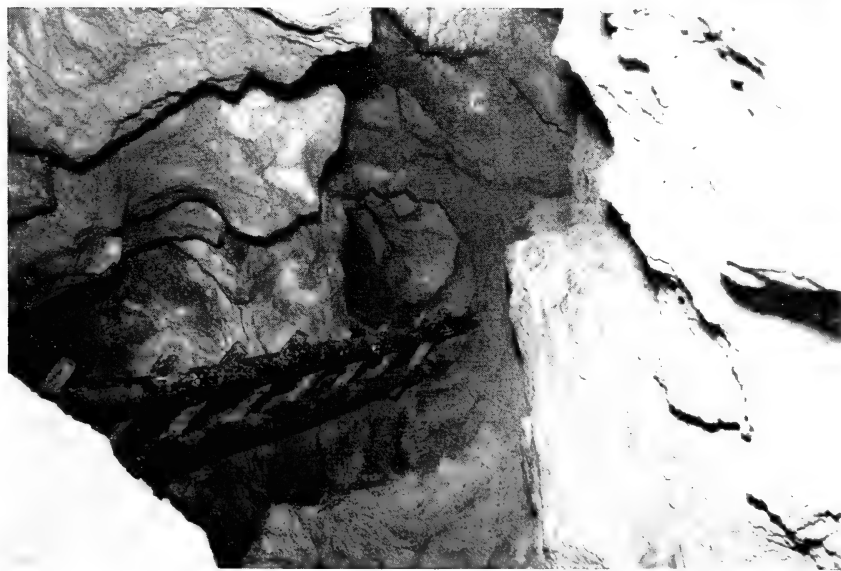


PLANCHE I. — Grotte du Chapeau de Napoléon.

En haut: vue de l'entrée; remarquer l'étroitesse du boyau qui lui fait suite.  
En bas: partie moyenne de la galerie d'accès, passage sub-vertical (vue prise  
en direction du haut).

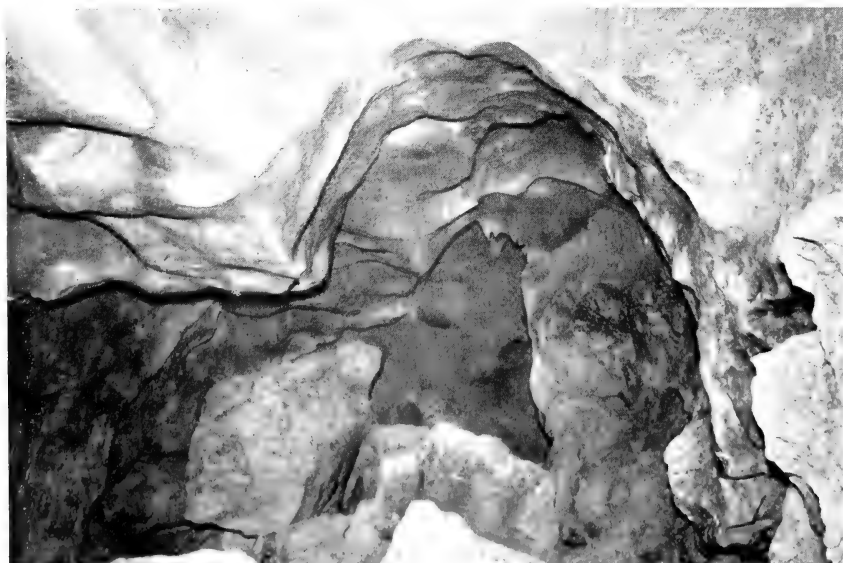


PLANCHE II. Grotte du Chapeau de Napoléon.

En haut: galerie B, zones 7 et 6. Au deuxième plan à droite, restes de stalagmites. Draperies et placages de mond-milch au plafond.

En bas: partie supérieure de la galerie reliant la 1<sup>re</sup> à la 2<sup>e</sup> salle. Le sol est recouvert d'un chaos de gros blocs, et le plafond porte d'évidentes traces d'érosion mécanique.

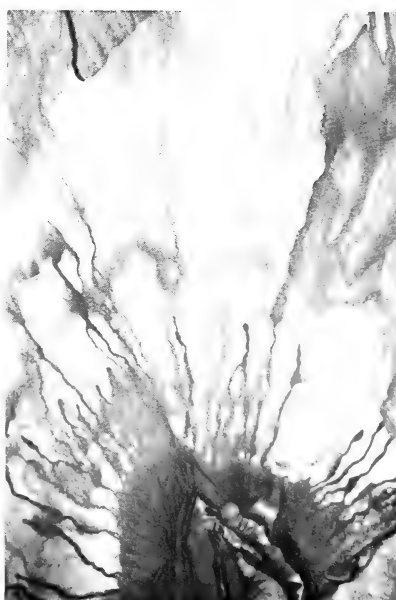
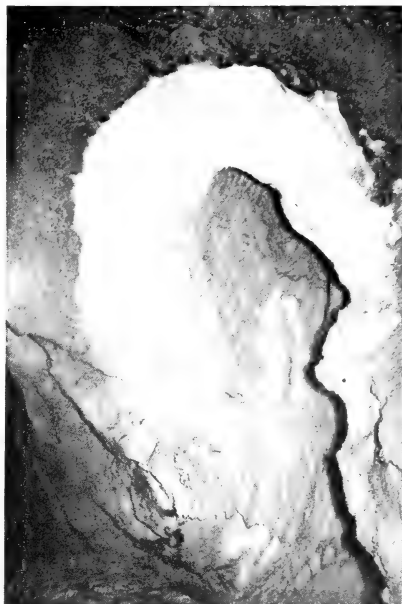


PLANCHE III. — Grotte du Chapeau de Napoléon.

En haut, à gauche: table de travail dans la galerie B. On distingue, au premier plan à gauche, le ruisseau, au fond le pied du cône d'éboulis.

En haut, à droite: auréole de mond-milch blanc au bas d'une petite cheminée latérale de la galerie B.

En bas, à gauche: placage de mond-milch blanc et draperie de mond-milch jaune-brun au pied de la cheminée  $C_2$  (galerie B).

En bas, à droite: trainées de mond-milch brun ou jaune sur fond de mond-milch blanc au bas de la cheminée  $C_1$  (1<sup>re</sup> salle).

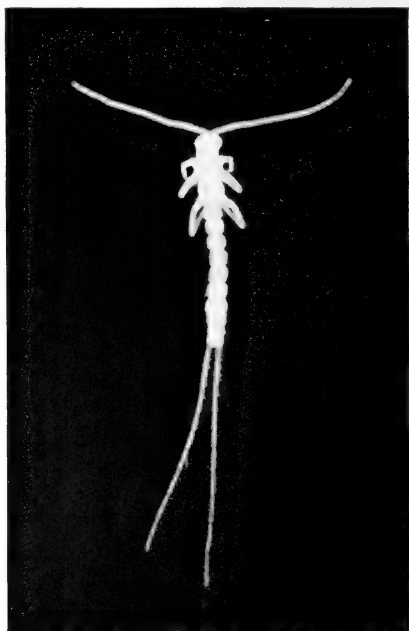
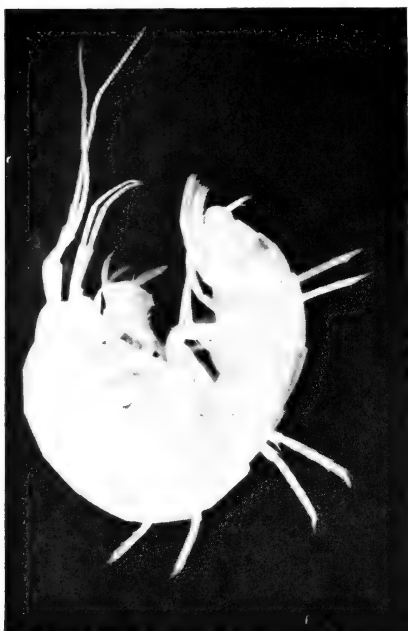


PLANCHE IV.

En haut, à gauche: *Niphargus longicaudatus rhenorhodanensis* Schellenb. (env. 11 × gr. nat.)

En haut, à droite: *Plusiocampa sollaudi* Denis (env. 8 × gr. nat.).

En bas, à gauche: *Rogierella villardi sermeti* Jeann. (env. 8 × gr. nat.).

En bas, à droite: *Neobisium simile* Koch (env. 8 × gr. nat.).



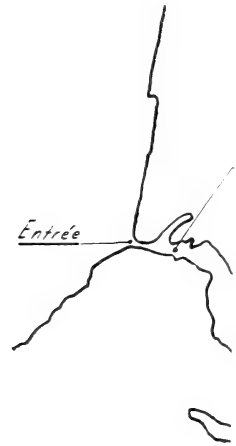
PLANCHE V.

En haut: Trichoptère (env.  $4 \times$  gr. nat.).

En bas: *Thelida atricornis* Meig. (env.  $11 \times$  gr. nat.).







Galerie d'ac

Coul

C



PLAN I: Grotte du Chapeau de Napoléon, plan et coupes. Echelle 1: 500 environ (relevés par la Société suisse de Spéléologie, section Val-de-Travers).



2

3

4

5

6

7

8




























PLAN II: Grotte du Chapeau de Napoléon; milieux terrestre et aquatique, remplissage, concrétions. Echelle 1:350 environ.



### Légende

- |   |                                |   |                                    |   |   |
|---|--------------------------------|---|------------------------------------|---|---|
|  | ruisselet, parcours permanent  |  | humus                              |  | placages de mond-mikh                             |
|  | ruisselet, parcours temporaire |  | éboulis                            |  | restes de stalagmites                             |
|  | ruisselet, parcours supposé    |  | groise (= argile + éléments calc.) |  | stalactites                                       |
|  | flaques permanentes            |  | argile de décalcification          |  | numéro de la série de piège (= ne zone ou région) |
|  | flaques temporaires            |  | sable                              |  | délimitation des zones                            |
|  | sources                        |  | gravier fluvi-glaciaire            |  | pièges  |
|  | gouttières importantes         |  | radier rocheux                     |  | points de mesure de la température de l'air       |
|  | perles                         |  | blocs détachés du plafond          |   |   |

4

5

6

7

8

9

10



## Contribution à l'étude des Trématodes de Chiroptères

Les genres *Limatulum* Travassos, 1921 et *Limatuloides*  
gen. nov.

par

**Georges DUBOIS**

Avec 3 figures dans le texte.

Le genre *Limatulum* a été créé par TRAVASSOS (1921, p. 78) d'après un matériel provenant de l'estomac d'un Molossidé du Brésil et qui fut attribué par erreur au *Distomum limatulum* Braun, 1900. Ce genre était caractérisé notamment par ses grosses ventouses subégales (diamètre 200 à 300  $\mu$  =  $\frac{1}{4}$  à  $\frac{1}{6}$  de la longueur du corps), par des caeca courts, un ovaire préacétabulaire (pouvant se déplacer sur le bord antérieur de l'acetabulum mais restant dans la zone de la moitié antérieure de l'organe) et par une poche du cirre virguliforme, récurvée et paracétabulaire (dont la partie proximale est au niveau de la moitié antérieure de l'acetabulum, et la partie distale en arrière de l'équateur de ce dernier).

Au contraire, le *Distomum limatulum* Braun a des ventouses beaucoup plus petites (environ 100  $\mu$ ) relativement aux dimensions du corps (rapport 1:9), un ovaire latéral au niveau du bord postérieur de l'acetabulum et une poche du cirre claviforme, procurvée et postacétabulaire (dont l'extrémité distale est paracétabulaire). Malheureusement BRAUN n'a pas observé les caeca<sup>1</sup>. Cependant

<sup>1</sup> En vain nous avons entrepris des démarches pour retrouver le matériel original du *D. limatulum*. Le Dr G. Hartwich, de l'« Institut für spezielle Zoologie und zoologisches Museum der Humboldt-Universität zu Berlin », nous a informé que ce matériel, catalogué sous le n° 2499, a disparu depuis la guerre. Aucune réponse ne nous est parvenue du Musée de Vienne.

une espèce très voisine du *Distomum limatulum*, décrite en Tchécoslovaquie par Mme J. HŮRKOVÁ (1961) sous le nom de *Limatulum duboisi* (syn. *Parabascus* sp. HŮRKOVÁ, 1959), puis retrouvée en France et en Suisse (cf. DUBOIS 1963, pp. 115-117), possède des caeca qui s'allongent un peu au-delà des testicules. Il est donc vraisemblable qu'une même disposition existe chez *D. limatulum* Braun.

L. TRAVASSOS a donc commis une erreur d'identification en désignant le *D. limatulum* Braun comme espèce-type du genre *Limatulum* Travassos, dont la diagnose était fondée sur l'observation d'une forme toute différente.

A l'instar de TRAVASSOS, CABALLERO (1943, pp. 178-182), puis LENT, DE FREITAS et PROENÇA (1945, pp. 504-505) ont commis la même erreur d'attribution.

En 1932, MACY décrivait un *Limatulum oklahomensis*<sup>1</sup>, de *Tadarida cynocephala* (Le Conte)<sup>2</sup>, que nous identifions au *Limatulum limatulum* Travassos, 1921 non Braun, 1900 (voir tableau comparatif). CABALLERO et BRAVO HOLLIS (1951, p. 349) avaient déjà attribué à ce même *L. limatulum* Travassos le *Limatulum solitarium* Pérez Vigueras, 1942, de *Molossus tropidorhynchus* Gray.

D'autre part, MACY (1935, p. 74) décrivait un *Limatulum gastroides*, de *Myotis lucifugus* (Le Conte), retrouvé plus tard (MACY 1947, p. 375) chez *Myotis californicus caurinus* Miller. Il s'agit d'une espèce congénérique du *L. limatulum* Travassos non Braun, dont la distribution géographique comprend le Wisconsin, le Minnesota et l'Oregon.

Enfin, CABALLERO et BRENES (1957, pp. 231-234) ont décrit sous le nom de *Ochoterenatrema costarricensis* un *Limatulum* Travassos sensu, de *Eptesicus propinquus* (Peters)<sup>3</sup>, provenant de Costa Rica. Nous rapportons ce parasite à *Limatulum gastroides* Macy en raison de sa petite taille<sup>4</sup> et du fait que la ventouse buccale est plus grande que l'acetabulum (voir tableau comparatif).

<sup>1</sup> Correction de l'orthographe originale incorrecte « oklamomensis » (MACY 1932, p. 29) [Voir légende de la figure 8, pl. II].

<sup>2</sup> Cette chauve-souris doit s'appeler maintenant *Tadarida brasiliensis cynocephala* (Le Conte).

<sup>3</sup> Cette chauve-souris s'appelle maintenant *Eptesicus brasiliensis propinquus* (Peters).

<sup>4</sup> L'holotype mesure 0,69 mm de longueur.

En résumé, le générotype de *Limatulum* Travassos, 1921 n'est pas *limatulum* Braun, 1900, malgré la désignation originelle, puisque la diagnose générique de TRAVASSOS est fondée sur l'observation d'une autre espèce. C'est donc cette dernière qui en devient le type (*limatulum* Travassos *non* Braun), mais qui doit changer de nom. Nous choisissons pour la désigner le synonyme le plus ancien: *oklahomensis* Macy, 1932. *L. gastroides* Macy, 1935 reste la seule espèce congénérique.

Pour le *limatulum* Braun, 1900, nous proposons le nouveau genre *Limatuloides*, avec *L. duboisi* (Hůrková, 1961) comme espèce congénérique. Il appartient à la sous-famille des *Parabascinae* Yamaguti, 1958, puisque les caeca outrepassent l'acetabulum et même les testicules, et que la poche du cirre est dans la zone acétabulaire ou postacétabulaire (cf. YAMAGUTI 1958, pp. 810 et 817-818). En voici la diagnose:

***Limatuloides* gen. nov.**

*Lecithodendriidae* Odhner, 1910, *Parabascinae* Yamaguti, 1958: Corps ovale à fusiforme, à cuticule spinellée, à ventouses relativement petites (de diamètre généralement inférieur à 100  $\mu$ ) et subégales, à acetabulum prééquatorial. Pharynx petit; œsophage moyen (50-130  $\mu$ ); caeca se terminant en arrière des testicules. Pore génital paracétabulaire, senestre. Poche du cirre claviforme, postacétabulaire et procurvée, opposée à l'ovaire, disposée transversalement ou obliquement et coudée aux deux tiers de sa longueur (où elle s'amincit) pour atteindre le pore génital, où le cirre peut faire saillie. Testicules sphériques ou ovoïdes, postacétabulaires, disposés symétriquement ou un peu obliquement, plus gros que l'ovaire prétesticulaire et immédiatement postacétabulaire, situé latéralement à droite. Vitellogènes confinés dans une zone comprise entre la bifurcation intestinale et le bord postérieur de l'acetabulum; réservoir vitellin situé entre l'ovaire et les testicules. Pore excréteur terminal; vésicule excrétrice en forme de V.

Générotype: *Limatuloides limatulus* (Braun, 1900) comb. nov. [Syn. *Distomum limatulum* Braun].

Espèce congénérique: *Limatuloides duboisi* (Hůrková, 1961) comb. nov. [Syn. *Limatulum duboisi* Hůrková; *Parabascus* sp. Hůrková, 1959].

A l'encontre de *Limatuloides*, le genre *Limatulum* Travassos, 1921 se définit comme suit:

***Limatulum* Travassos, 1921**

*Lecithodendriidae* Odhner, 1910, *Limatulinae* Yamaguti, 1958: Corps ovale ou elliptique, à cuticule spinellée, à grandes ventouses subégales, à acetabulum équatorial ou prééquatorial. Pharynx petit; œsophage très court; caeca courts, ne dépassant pas l'équateur de l'acetabulum. Pore génital paracétabulaire, à l'équateur ou un peu en arrière de l'équateur de l'acetabulum. Poche du cirre

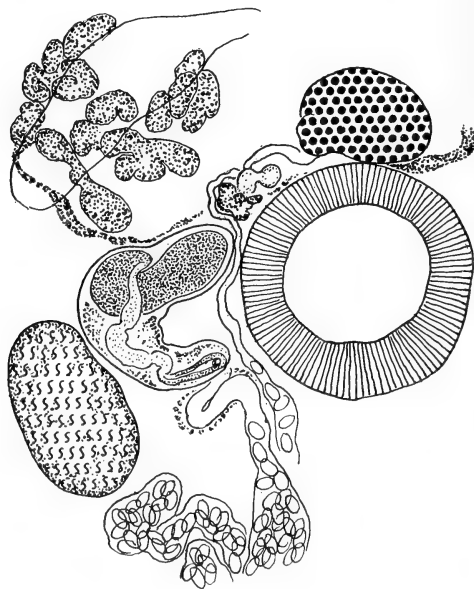


FIG. 1.

*Limatulum oklahomense* Macy, 1932, de *Tadarida cynocephala* (Le Conte).  
Holotype: détail de la région génitale gauche. Vue dorsale.

virguliforme, récurvée et paracétabulaire, dont l'extrémité proximale est au niveau du bord frontal ou de la moitié antérieure de l'acetabulum. Testicules sphériques ou ovoïdes, para- à postacétabulaires, symétriquement disposés, plus gros que l'ovaire préacéta-

bulaire, médian ou submédian à latéral. Vitellogènes pré- ou paracaecaux. Pore excréteur terminal; vésicule excrétrice en forme de V.

Générotipe: *Limatulum oklahomense* Macy, 1932 [Syn. *Limatulum limatulum* Travassos, 1921 *non* Braun, 1900; *Limatulum solitarium* Pérez Vigueras, 1942].

Espèce congénérique<sup>1</sup>: *Limatulum gastroides* Macy, 1935<sup>2</sup> [Syn. *Ochoterenatrema costarricensis* Caballero et Brenes, 1957].

Espèce aberrante: *Limatulum aberrans* Caballero et Bravo Hollis, 1950.

#### DIAGNOSE DE L'HOLOTYPE DE *Limatulum oklahomense* (observable en vue dorsale)

Corps elliptique<sup>3</sup>. Ventouse buccale 177/214  $\mu$ ; acetabulum 235  $\mu$ , équatorial. Pharynx 60/73  $\mu$ ; caeca 270  $\mu$  et 330  $\mu$  de long et 80 à 93  $\mu$  de large, se terminant à 78 et 107  $\mu$  au-devant des testicules.

Testicules ovoïdes, latéraux, situés symétriquement au niveau de la seconde moitié de l'acetabulum (légèrement postéquatoriaux): testicule droit 200/125  $\mu$ , testicule gauche 180/104  $\mu$ . Poche du cirre virguliforme, récurvée, paracétabulaire, *senestre*, longue de 270  $\mu$ , large de 70  $\mu$  dans sa partie proximale, renfermant une vésicule séminale repliée, une *pars prostatica* et un cirre long de 55 à 60  $\mu$  (dont les parois musculeuses ont 3 à 5  $\mu$  d'épaisseur). Le pore génital est paracétabulaire, à 60  $\mu$  en arrière de l'équateur de l'acetabulum.

Ovaire ovoïde, précacétabulaire et submédian, *dextre*; oviducte, canal de Laurer, glande de Mehlis et réservoir vitellin opposables à l'ovaire; utérus longeant le bord gauche de l'acetabulum, développant ses circonvolutions dans le tiers postérieur du corps et se ter-

<sup>1</sup> *Limatulum scabrum* Caballero, 1940 a été transféré dans le genre *Prosthodendrium* Dollfus, 1931 par CABALLERO (1943, p. 182).

*Limatulum diminutum* Chandler, 1938 a été transféré dans le genre *Ochoterenatrema* Caballero, 1943 par DUBOIS (1960, pp. 29 et 74).

<sup>2</sup> Dans la diagnose de *Limatulum gastroides*, MACY (1935, p. 74) indique que la poche du cirre est à droite de l'acetabulum et que l'ovaire est situé à gauche de l'axe longitudinal du corps. Cependant l'holotype, observable dorsalement, présente le *situs inversus*: la poche du cirre est *senestre* et l'ovaire, *dextre* (fig. 3), comme pour le synonyme *costarricensis* (cf. CABALLERO et BRENES 1957, pp. 233, 234 et fig. 7), ce que nous avons vérifié sur le spécimen-type.

<sup>3</sup> Pas de spinescence cuticulaire, sinon sous forme de traces sur le bord gauche du corps, à la hauteur du pharynx.

minant par un court *metraterm* replié à 180°, long de 130  $\mu$  et dont les parois musculieuses ont 4 à 5  $\mu$  d'épaisseur. Oeufs 21/13  $\mu$  (moyenne). Vitellogènes pré- et paracaecaux.

Hôte: *Tadarida cynocephala* (Le Conte).

Habitat: intestin.

Distribution géographique: Kansas et Oklahoma (U.S.A.).

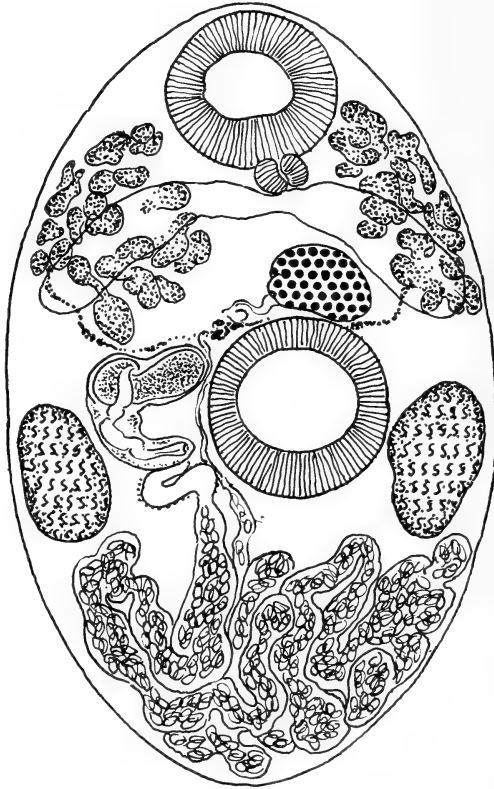


FIG. 2.

*Limatulum oklahomense* Macy, 1932,  
de l'intestin de *Tadarida cynocephala* (Le Conte).  
Holotype (U.S. Nat. Mus., Helm. Coll. n° 8576) [Okla. (Aetna, Kansas),  
Sept. 5, 1930]. Vue dorsale. Longueur 0,97 mm.

A notre avis, *Glyptoporus* Macy, 1936 ne saurait être considéré comme synonyme de *Limatulum* Travassos, 1921, comme l'a fait YAMAGUTI (1958, p. 815), car la poche du cirre est procurvée

(courbée en remontant et non en descendant comme celle de *Limatulum*) et le pore génital est préacétabulaire, submédian.

La sous-famille des *Parabascinae* Yamaguti, 1958 réunit les genres *Parabascus* Looss, 1907, *Parabascoides* Stunkard, 1938, et *Limatuloides* gen. nov.

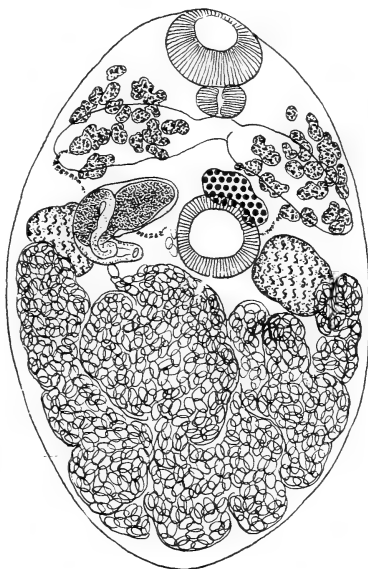


FIG. 3.

*Limatulum gastroides* Macy, 1935, de *Myotis lucifugus* (Le Conte).  
Holotype (U.S. Nat. Mus., Helm. Coll. n° 8959) [Stockholm, Wisconsin,  
August 23, 1933 — stomach]. Vue dorsale. Longueur 0,66 mm.

DUBOIS (1963, pp. 117, 118 et 123) a montré que le genre *Moedlingeria* créé par YAMAGUTI (1958, pp. 818-819) et inclus dans cette sous-famille, tombe comme synonyme de *Allassogonoporus* Olivier, 1938.

#### *Clé de détermination des genres*

1. Caeca atteignant l'extrémité postérieure du corps. *Parabascus*
- Caeca se terminant à une courte distance derrière les testicules . . . . . 2

2. Pores génitaux ♂ et ♀ séparés et distincts, latéraux et postacétabulaires . . . . . *Parabascoides*  
 — Pore génital paracétabulaire . . . . . *Limatuloides*

NOUVELLE DIAGNOSE DE LA SOUS-FAMILLE  
 DES **Parabascinae**

*Lecithodendriidae* Odhner, 1910: Corps ovale, fusiforme ou allongé, dont la première moitié est couverte d'épines cuticulaires disposées en quinconce. Ventouses petites à moyennes; acetabulum équatorial ou prééquatorial. Oesophage moyen à long; caeca dépassant un peu les testicules ou atteignant l'extrémité postérieure du corps. Ovaire postacétabulaire, submédian ou latéral; testicules postovariens et postéquatoriaux, disposés un peu obliquement ou symétriquement. Poche du cirre postacétabulaire. Pores génitaux réunis ou séparés, latéraux, para- ou postacétabulaires. Vitellogènes confinés dans une zone comprise entre la bifurcation intestinale et l'acetabulum ou un peu plus en arrière. Utérus occupant la moitié postérieure du corps. Vésicule excrétrice en forme de V.

REMERCIEMENTS

Grâce à l'obligeance du Dr W. W. Becklund, du Beltsville Parasitological Laboratory, nous avons pu examiner les holotypes de *Limatulum oklahomense* Macy, 1932 et de *L. gastroides* Macy, 1935 (U. S. Nat. Mus., Helm. Coll. N° 8576 et 8959, respectivement).

Le Dr Rafael Lamothe A., de l'« Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México », nous a accordé le prêt du type d'*Ochoterenatrema costurricensis* Caballero et Brenes, 1957 (N° 215-18 de la collection de cet institut).

Nous remercions le professeur R. Ph. Dollfus, de Paris, de nous avoir communiqué son exemplaire des « Notas helmintológicas » de PÉREZ VIGUERAS. Nous avons fait appel à sa compétence dans l'interprétation des articles 68 *a* et 70 *a* du nouveau Code International de Nomenclature Zoologique.

RÉSUMÉ

Le générotype de *Limatulum* Travassos, 1921 (*Trematoda: Lecithodendriidae*) n'est pas *limatulum* Braun, 1900, malgré la



# GENRE *LIMATULUM* TRAVASSOS, 1921

		L. OKLAHOMENSE Macy, 1932				L. GASTROIDES Macy, 1935	
		« <i>L. limatulum</i> » Travassos, 1921 non Braun, 1900		<i>L. oklahomense</i>		<i>L. gastroides</i>	
		TRAVASSOS 1921	CABALLERO 1943	LENT, FREITAS et PROENÇA, 1945	PÉREZ VIGUERAS, 1942	MACY, 1935	O. costaricensis CABALLERO et BRENES, 1957
Longueur . . . . .		4.2-4.3 mm	1.56-1.68 mm	1.04-1.24 mm	0.97 mm	0.54-0.70 mm	0.66-0.77 mm
Largeur . . . . .		0.52-0.60	0.80-0.84	0.52-0.61	0.61	0.40-0.50	0.52-0.54
Ventouse buccale . . . . .		240-230 $\mu$	294-300/316-325 $\mu$	200-220/220-260 $\mu$	170/210 $\mu$	80-95/90-105 $\mu$	134 $\mu$ (holotype)
Pharynx . . . . .		71	73-82/78-82	70-90	62/74	30-40/40-50	37-54/37-42
Acetabulum . . . . .		200-220	341/333-341	230-270	230	77-90/74-85	96-125/112-116
Ovaire . . . . .		140	135-158/140-158	110-120/80-110	130/86	56-86/36-54	79-114/112-125
Testicules . . . . .		170-240/90-120	135-175/123-183	160-190/100-160	190/120	87-110/52-104	135-208/137-179
Poche du cirre . . . . .		190-210	286-350	210-250	270	110-132	125-137
Œufs . . . . .		20/10	16-20/10-14	18-20/9-12	23.5/12.4	19-21/11-13	21/12
Œsophage . . . . .		71-100	33-41	20-30	—	court	court
Caeca . . . . .		240	courts	courts	270	courts	courts
Rapp. $\frac{\varnothing \text{ acetabulum}}{\text{long. corps}}$		1/6	1/5	1/5	1/4	1/8	1/6
Hôtes . . . . .		<i>Molossidae</i>	<i>Natalus mexicanus</i>	<i>Myotis nigricans</i>	<i>Tadarida cynoe- phala</i>	<i>Myotis lucifugus Myotis californi- cus caurinus</i>	<i>Eptesicus propinquus</i>
Distrib. géograph. . . . .		Rio de Janeiro Brésil	Mexique	Paraguay	Kansas et Oklahoma	Jamaïque et Cuba	Costa Rica
Habitat . . . . .		estomac	intestin grêle	intestin grêle	intestin	estomac, intestin	intestin grêle

tautonymie: c'est l'espèce décrite par TRAVASSOS sous le nom erroné de *limatulum* et dont les synonymes sont *oklahomense* Macy, 1932 et *solitarium* Pérez Vigueras, 1942. Le nouveau genre *Limatuloides* est proposé pour l'espèce de BRAUN. Il appartient à la sous-famille des *Parabascinae* Yamaguti, 1958.

## BIBLIOGRAPHIE

- BRAUN, M. 1900. *Trematoden der Chiroptera*. Ann. naturh. Mus. Wien 15 (3-4): 217-236.
- CABALLERO, E. 1940. *Algunos Trematodos intestinales de los murcielagos de Mexico. I*. An. Inst. Biol. México 11 (1-2): 215-223.
- 1943. *Trematodos de los murcielagos de Mexico. IV. Descripcion de un nuevo genero de la subfamilia Lecithodendriinae Looss, 1902 y una nueva especie de Prosthodendrium Dollfus, 1931*. Ibid. 14 (1): 173-193.
- e M. BRAVO HOLLIS. 1950. *Trematodos de los murcielagos de Mexico. VI. Descripcion de una nueva especie de Limatulum (Trematoda: Lecithodendriidae)*. An. Inst. Biol. México 21 (2): 345-350.
- e R. R. BRENES M. 1957. *Helminos de la Republica de Costa Rica. VI. Algunos Trematodos de peces, reptiles y mamíferos*. An. Inst. Biol. México 28 (1-2): 217-240.
- DUBOIS, G. 1960. *Contribution à l'étude des Trématodes de Chiroptères. Revision du sous-genre Prosthodendrium Dollfus 1931 et des genres Lecithodendrium Looss 1896 et Pycnopus Looss 1899*. Rev. suisse Zool. 67 (1): 1-80.
- 1963. *Ibid. Revision du genre Allassogonoporus Olivier 1938 et note additionnelle sur le sous-genre Prosthodendrium Dollfus 1931*. Ibid. 70 (1): 103-125.
- HURKOVÁ, J. 1959. *Prosthodendrium (Prosthodendrium) carolinum n. sp. and some less known bat trematodes in ČSR*. Acta Soc. zool. Bohemoslov. 23 (1): 23-33.
- 1961. *A contribution to the knowledge of bat trematodes of the g. Parabascus Looss and g. Limatulum Travassos (fam. Lecithodendriidae) with a description of a new species*. Ibid. 25 (4): 277-288.
- LENT, H., TEIXEIRA DE FREITAS, J. F. e M. CAVALCANTI PROENÇA. 1945. *Trematódeos de morcegos colecionados no Paraguay*. Rev. Brasil. Biol. 5 (4): 499-507.
- LOOSS, A. 1907. *Notizen zur Helminthologie Aegyptens. VII. Ueber einige neue Trematoden der ägyptischen Fauna*. Zbl. Bakt. Jena, Abt. 1 Orig. 43 (5): 478-490.

- MACY, R. W. 1932. *New bat trematodes of the genera Plagiorchis, Limatulum, and Dicrocoelium*. J. Parasit. Urbana 18 (1): 28-33.
- 1935. *A new trematode, Limatulum gastroides (Lecithodendriidae), from the little brown bat, Myotis lucifugus*. Proc. Helminth. Soc. Washington 2 (2): 74-75.
- 1936. *A new genus and species of trematode from the little brown bat and a key to the genera of Pleurogenetinae*. Proc. U. S. Nat. Mus. 83 (n° 2986): 321-324.
- 1947. *Parasites Found in Certain Oregon Bats With the Description of a new Cestode, Hymenolepis gertschi*. The Amer. Midl. Nat. 37 (2): 375-378.
- PÉREZ VIGUERAS, I. 1942. *Notas helmintológicas*. Univ. Habana 40-42: 193-223.
- STUNKARD, H. W. 1938. *Parasitic flatworms from Yucatan*. Carnegie Inst. Washington Publ. n° 491: 33-50.
- TRAVASSOS, L. 1921. *Contribuições para o conhecimento da fauna helmintológica brasileira*. XV. — *Sobre as espécies brasileiras da família Lecithodendriidae Odhner, 1911*. Arch. Esc. Sup. Agric. Med. Veter. 5 (NS. 1 E 2): 73-79.
- YAMAGUTI, S. 1958. *Systema Helminthum. I. The digenetic Trematodes of Vertebrates*. 1575 p., New York-London.
-



# Collemboles d'Europe. VI

par

**Hermann GISIN**

Muséum d'Histoire naturelle de Genève

Avec 17 figures dans le texte.

## SOMMAIRE

A. Contribution à la revision du genre <i>Lepidocyrtus</i> . . . . .	383
1. <i>L. curvicollis</i> . . . . .	383
2. <i>L. lanuginosus</i> . . . . .	385
3. <i>L. cyaneus</i> et <i>violaceus</i> . . . . .	386
4. <i>L. paradoxus</i> . . . . .	387
5. <i>L. instratus</i> . . . . .	388
6. <i>L. fimetarius</i> n. sp. . . . .	390
B. <i>Neanura decolorata</i> Gama et Gisin, n. sp. . . . .	391
C. Quatre espèces nouvelles du genre <i>Onychiuus</i> . . . . .	392
1. <i>O. papulosus</i> n. sp. (Suisse) . . . . .	392
2. <i>O. bosnarius</i> n. sp. (Yougoslavie) . . . . .	394
3. <i>O. ossarius</i> n. sp. (Italie) . . . . .	395
4. <i>O. defensarius</i> n. sp. (Italie) . . . . .	397
D. <i>Entomobrya puncteola</i> Uzel (= <i>dorsalis</i> Uzel) . . . . .	399

## A. CONTRIBUTION A LA REVISION DU GENRE *Lepidocyrtus*

### 1. *Lepidocyrtus curvicollis* Bourlet (fig. 1-2)

Depuis plus de dix ans, je suis convaincu que les caractères distinctifs utilisés habituellement par les auteurs pour séparer *L. curvicollis* de *L. lanuginosus* sont insuffisants. La différence de la

forme du mesonotum, qui avait été seule considérée jusqu'à tout récemment, est un peu délicate à apprécier sur de petits spécimens. L'étude de la répartition des macrochètes dorsaux (fig. 1) confirme toutefois le bien-fondé de ma conception antérieure (GISIN 1952: 21, et GISIN 1960, fig. 439, 440). Or, j'ai eu la surprise de découvrir qu'il y avait encore d'autres caractères distinctifs, bien plus faciles à observer, et qui démontrent que les deux espèces ne sont même pas si voisines qu'on le pensait jusqu'à présent.

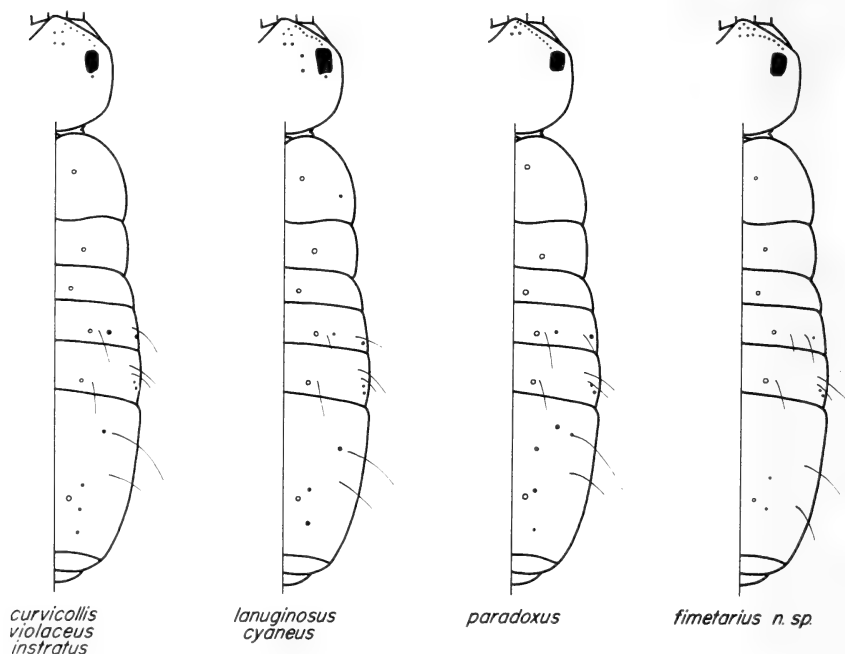


FIG. 1.

Chétotaxie chez différentes espèces de *Lepidocyrtus*.

Chez *L. curvicollis*, les articles antennaires I et II ont des plages dorsales couvertes de nombreuses écailles, mais dépourvues de poils; plus rarement, sur de grands individus, on trouve quelques écailles disséminées parmi les poils du troisième article ou même de la base du quatrième. Ces écailles tombent souvent pendant la récolte et le transport des spécimens, mais on reconnaît tout de suite alors les plages dénudées des deux premiers articles antennaires et on y remarque les nombreuses insertions des écailles; ces insertions

se distinguent un peu de celles des poils, car ce sont des fourreaux insérés de biais dans le tégument, et non pas des anneaux chitineux, comme pour la base des poils. La face ventrale de l'ant. I ne porte pas d'écailles: en revanche, on trouve quelques écailles éparses entre les poils de la face ventrale de l'ant. II.

Le manubrium est aussi le siège de caractères distinctifs frappants. Une large bande médiane à la face dorsale (= postérieure) porte des écailles au lieu de poils; cette bande s'arrête un peu avant l'extrémité distale du manubrium, où apparaît une paire de plaques pourvues, chacune, de deux pseudopores (fig. 2). C'est la première fois qu'on signale des pseudopores sur cette partie du corps. Je rappelle que ces organes (GISIN 1963: 92) sont des disques chitineux posés sur le tégument; leur signification est mystérieuse, ce ne sont en tout cas pas des insertions de poils. Le nombre des poils sur ces plaques manubriales est un peu variable, et je ne peux pas en préciser la norme spécifique.

A la face ventrale (= antérieure) du manubrium, il y a  $2 + 2$  poils apicaux entre deux groupes d'écailles.

Enfin, tous les articles des trois paires de pattes de *L. curvicollis* sont couverts de nombreuses écailles qui s'intercalent entre les poils. Le tube ventral porte des écailles sur toutes ses faces.

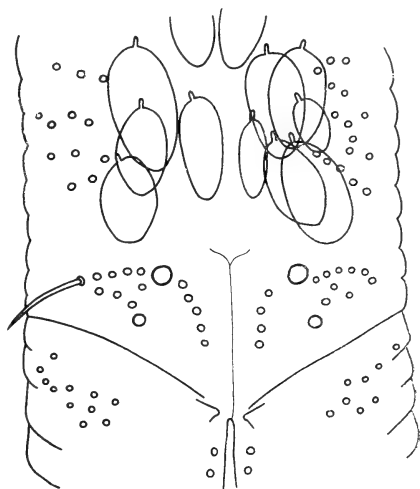


FIG. 2.

*Lepidocyrtus curvicollis*.

Extrémité du manubrium et bases des dents, face dorsale. Les  $2 + 2$  grands cercles sont des pseudopores.

## 2. *Lepidocyrtus lanuginosus* (Gmelin) (fig. 1)

Pour la première fois, et à titre de comparaison avec des *Lepidocyrtus* et *Pseudosinella* cavernicoles, j'ai publié la chétotaxie dorsale de *L. lanuginosus* dans un travail récent (GISIN 1963, fig 5b). Mais il m'avait échappé que la tête portait quelques macrochètes

inattendus chez cette espèce apparemment peu spécialisée. J'ai donc préparé un nouveau schéma de la chétotaxie (fig. 1). Toutefois, comme je viens de le dire à propos de *L. curvicollis*, les caractères distinctifs entre ces deux espèces ne sont pas limités à la répartition de ces macrochètes.

Les antennes sont toujours entièrement dépourvues d'écailles; il n'y a donc pas non plus les plages dénudées de poils à la face dorsale des deux premiers articles antennaires.

La face dorsale du manubrium est bien dégarnie de poils le long d'une bande médiane, mais il n'y a jamais une seule écaille sur cette bande, contrairement à *curvicollis*. A l'extrémité distale, cette bande dénudée est limitée par une paire de plaques, pourvues chacune, comme chez *curvicollis*, de deux pseudopores (cf. fig. 2) et le plus souvent de 5 poils (2 du côté médial, 3 du côté externe des pseudopores). Les faces latérales et ventrale du manubrium sont couvertes d'écailles comme chez *curvicollis*.

Contrairement à *L. curvicollis*, *lanuginosus* n'a pas d'écailles sur les tibiotarses, les fémurs et les trochanters; en revanche, quelques grosses écailles peuvent être observées sur les coxae II et III.

Le tube ventral ne semble pas porter d'écailles, mais comme il est généralement caché dans les préparations, il est difficile de s'assurer qu'il en est toujours ainsi.

### 3. *Lepidocyrtus cyaneus* Tllbg. et *L. violaceus* Lubb. (fig. 1, 3, 4)

Lors de mes études sur la répartition écologique des Collemboles dans les environs de Bâle, j'avais observé que des *Lepidocyrtus* bleus à mesothorax peu proéminent se rencontraient dans deux biotopes très différents: prairies fumées d'une part, et mousses et lichens sur écorce d'arbres en forêt, d'autre part. Des stations à caractère intermédiaire n'hébergeaient aucun *Lepidocyrtus* bleu, ce qui faisait naître le soupçon qu'il s'agissait de deux espèces distinctes. Je voyais une confirmation de ce soupçon dans le fait que la coloration de populations provenant des deux types de milieu étaient généralement différente: azure avec pattes et furca blanches pour la forme des prairies, violette mouchetée transgressant sur les fémurs et le manubrium pour la forme des forêts. J'ai appelé la première *cyaneus*, la seconde *violaceus* (GISIN 1944: 29-30).



Cette conception a été critiquée et peu suivie. Je puis maintenant en établir définitivement le bien-fondé. Les deux espèces ne sont même pas très voisines: à part la coloration, *cyaneus* est en tous points semblable à *lanuginosus*, et *violaceus* à *curvicollis*! Je renvoie donc aux descriptions qui précèdent.

FIG. 3.  
*Lepidocyrtus*  
*cyaneus*.  
Abd. IV, chéto-  
taxie dorsale,  
de profil.

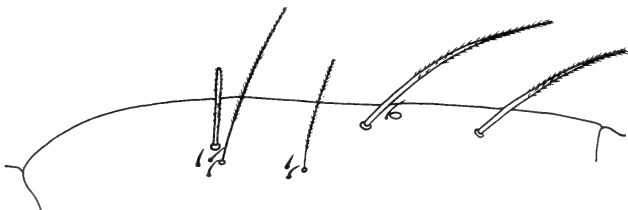
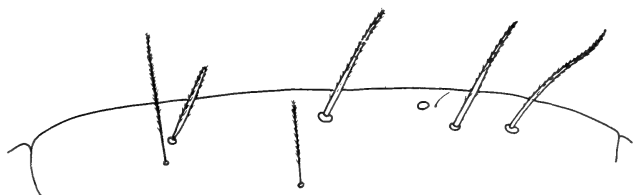


FIG. 4.  
*Lepidocyrtus*  
*violaceus*.  
Abd. IV, chéto-  
taxie dorsale,  
de profil.



Il est surprenant qu'on ait aussi longtemps confondu deux espèces si nettement distinctes. *L. violaceus* et *curvicollis* forment donc un groupe d'espèces très voisines s'opposant à un autre groupe représenté par *L. cyaneus* et *lanuginosus*. C'est là une vision entièrement nouvelle et inattendue de la systématique des *Lepidocyrtus* européens: elle nécessite une refonte complète des clefs de déterminations.

#### 4. *Lepidocyrtus paradoxus* Uzel (fig. 1)

À la lumière des découvertes exposées dans les trois paragraphes précédents, il était intéressant de vérifier la position systématique de *L. paradoxus*. Mes observations sont fondées sur des spécimens des environs de Genève, où l'espèce est commune.

D'après la forme très saillante du mésonotum, on est conduit à penser qu'il s'agit d'une espèce ultra-évoluée du groupe *curvicollis-violaceus*. Cette supposition est confirmée par la répartition des écailles, qui est effectivement la même que chez *curvicollis*; en par-

ticulier, il y en a sur les antennes, les pattes, le tube ventral et sur toutes les faces du manubrium. La chétotaxie des macrochètes dorsaux ressemble aussi à celle de *curvicollis*; il y a toutefois des différences très particulières: les 2 + 2 macrochètes antérieurs de l'abd. IV sont plus déplacés en avant, par rapport aux trichobothries, que chez les autres espèces examinées par moi. L'absence des deux macrochètes postérieurs, qui, chez les autres espèces, font partie d'un rectangle sur la tête, est singulière aussi.

Il s'agit donc bien d'une espèce à part, issue du groupe *curvicollis-violaceus*.

HANDSCHIN (1924) signale l'espèce dans les Alpes grisonnes, au-dessus de la limite des forêts; je suis convaincu qu'il s'agit d'une confusion avec *L. violaceus*, qui est courant en montagne, tandis que *paradoxus* est typiquement une espèce de la plaine et des collines (stations les plus élevées en Suisse: Gingins, pied du Jura vaudois, et Sion, chef-lieu du Valais).

##### 5. *Lepidocyrtus instratus* Handschin (fig. 1, 5)

L'étude de topotypes me permet de corriger et de compléter la description originale. D'après HANDSCHIN (1924), l'espèce serait caractérisée par l'absence de dents aux griffes, et par la forme de l'empodium obliquement tronqué. Je ne peux pas confirmer ces caractères: les dents des griffes sont relativement petites, il est vrai, mais distinctes (fig. 5); l'empodium est un peu asymétrique, mais pas tronqué.

Le mésothorax proéminent et la répartition des macrochètes dorsaux se présentent comme chez *L. curvicollis* (fig. 1); il y a en particulier 4 + 4 macrochètes dorsaux sur abd. IV. Les griffes ressemblent aussi beaucoup à celles de *curvicollis*; elles sont cependant plus élancées et leurs dents internes sont placées plus près de la base (fig. 5, et 6); la paire des dents proximales est toujours insérée en deçà du milieu de la crête interne des griffes (à environ 40%), tandis que, chez *curvicollis*, ces dents se trouvent en général au delà du milieu (50-55%).

Comme chez *curvicollis*, les deux premiers articles antennaires portent toujours de nombreuses écailles; je n'ai pas pu mettre en évidence des écailles sur ant. III et IV. Il est en revanche certain qu'il y a quelques écailles sur les faces antérieure et latérales du tube

ventral. Les pattes ont des écailles à tous les articles, peut-être à l'exception des coxae I, où je n'ai pas réussi à en voir. Sur le manubrium les écailles sont aussi réparties comme chez *curvicollis*.

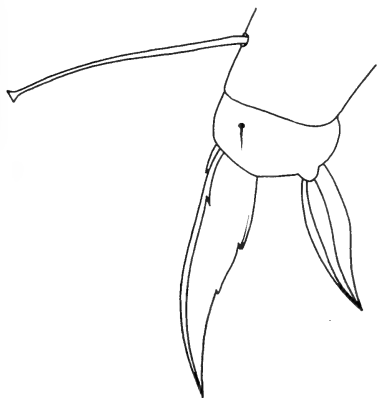


FIG. 5.  
*Lepidocyrtus instratus*.  
Griffe III, face externe.

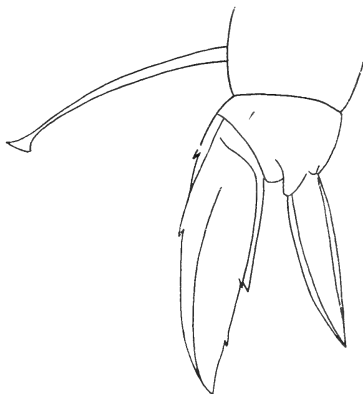


FIG. 6.  
*Lepidocyrtus curvicollis*.  
Griffe III, face externe.

La coloration de *L. instratus* est caractéristique, ainsi que HANDSCHIN l'a décrite: les tergites th. III-abd. III sont bleu violet, et chez les exemplaires foncés, ce pigment s'étend plus ou moins sur th. II et abd. IV. Il existe cependant aussi des spécimens très pâles. Les articles des pattes à partir du trochanter sont toujours dépourvus de pigment. En revanche, il est très caractéristique que la région de la bouche est toujours pigmentée, ce qui n'arrive que très exceptionnellement chez les espèces voisines.

Matériel examiné: 1) Engadine, Parc National suisse, Munt la Schera, abri sous roche du Val Chavail, alt. 2430 m., nombreux spécimens.

2) Engadine, Parc National suisse, Buffalora, sol de pâturage et Val del Botsch, éboulis, 2300-2600 m.

3) Avers, Grisons (Suisse), Rotloch (grotte), 2560 m, 8-8-1963, 12 spécimens, leg. MM. Aellen et Strinati.

4) Avers, Grisons, Unter-Rotloch (grotte près de la précédente), 2550 m. 8-8-1963, 3 spécimens leg. MM. Aellen et Strinati.

5) Zillertaler Alpen (Tirol autrichien), Rossrücken, 2600-2820 m, et Hornkees, 2000 m, leg. Janetschek.

6) Dachstein (Styrie), Guttenberghaus, dans des mousses, leg. Franz.

***Lepidocyrtus fimetarius* n. sp. (fig. 1)**

Justification. — A en juger d'après l'absence d'écailles sur les antennes et sur les pattes, c'est une espèce du groupe *lanuginosus*, qui pourrait bien comprendre encore d'autres espèces en Europe. Cependant la chétotaxie est différente. *L. fimetarius* n. sp. est la seule des espèces traitées dans ce travail, qui n'ait pas de macrochètes entre les deux trichobothries de chaque côté de l'abd. II (fig. 1); ces trichobothries sont d'ailleurs beaucoup plus rapprochées entre elles que chez d'autres espèces. Les trichobothries de l'abd. IV sont également un peu déplacées, par rapport à celles des autres espèces: la trichobothrie postérieure de l'abd. IV est insérée au même niveau que le pseudopore, donc en arrière du milieu du segment. L'abd. IV ne possède que 2 macrochètes dorsaux de chaque côté, au lieu de 3 ou 4 chez les autres espèces. Il semble pour le moment impossible d'homologuer ces macrochètes chez les différents groupes d'espèces.

Description. — Taille: 1-1,2 mm. La partie dorsomédiane du mésothorax est assez prolongée en avant, mais elle n'est pas voûtée, comme chez *curvicollis*, en une face abrupte portant la collerette de poils et d'écailles. Les yeux et une bande interoculaire sont bleu foncé; les antennes sont bleu clair; des traces de pigment bleu se trouvent aussi sur les coxae, ainsi que sur la tête et les côtés du thorax; la bouche est incolore. Dans l'ensemble, c'est donc une forme peu pigmentée, semblable, en cela, à *lanuginosus*. Chétotaxie dorsale, voir fig. 1. Ant./diagonale céphalique = 1,3. Antennes et pattes sans écailles, à l'exception des coxae II et III. Organe ant. III sous forme de deux petits bâtonnets ovoïdes. 8 + 8 yeux. Abd. IV environ 3,5 fois aussi long qu'abd. III. Dents internes des griffes petites, les proximales à peu près au milieu de la crête. Empodium inerme, symétrique. Ergot spatulé. Face dorsale du manubrium dépourvue d'écailles; chacune des deux plaques apicales portant deux pseudopores, deux poils internes, et, normalement, deux

externes. Tenaculum muni d'un poil. Partie non annelée des dents deux fois aussi longue que le mucron. Dentes sans lobes proximaux ni épines.

Station. — Champignonnière dans la carrière de St-Gervais (Seine-et-Oise, France), terre de gobetage d'une meule en pleine production, nombreux exemplaires 27-X-1960 transmis par M. J. d'Aguilar. Types au Muséum de Genève (Kv 22).

*B. Neanura decolorata* GAMA ET GISIN, n. sp. (fig. 7, 8)

Justification. — La nouvelle espèce est très voisine de *N. phlegraea* Caroli; les deux formes ont le même nombre de poils sur les tubercules dorsaux, à un détail près: le tubercule latéral de l'abd. IV porte 8 poils chez *decolorata* n. sp., 7 poils seulement chez *phlegraea*. Mais ce qui distingue *decolorata* n. sp. de toutes les espèces voisines, c'est la fusion partielle du tubercule central de la tête avec l'apical réalisée par le développement, de chaque côté, d'un tubercule secondaire entre les poils D et F (fig. 7); l'aire médiane délimitée par ces tubercules secondaires DF présente une granulation ordinaire, fine, donc sans tubercule secondaire. Le rapport de longueur des 3 + 3 poils du tubercule médian de l'abd. V, ainsi que la décoloration presque complète caractérisent également la nouvelle espèce.

Description. — Taille: 1,3-2,0 mm. Coloration: à première vue blanche, à l'exception d'une tache bleue dans chaque œil; le fort grossissement révèle toutefois chez la plupart des spécimens la présence de minuscules grains de pigment disséminés sur le corps. Abd. VI complètement ou en grande partie cachée sous abd. V. Chétotaxie: tubercules dorsointernes 133/222237, dorsoexternes 4/234/4443, dorsolatéraux 6/144/22238, latéraux 8-10/033/3348, setae sensuales y compris. Tubercules céphaliques central et apical, voir fig. 7; il n'y a pas de poil médian. Antérolatéralement au poil E, il y a un tubercule secondaire qui fait la liaison avec le tubercule oculaire, qui, lui, porte 3 poils, comme d'habitude. La longueur relative des 3 + 3 poils des tubercules dorsointernes fusionnés de l'abd. V est de 6/2/1 (fig. 8). Tous les poils sont finement rugueux; les macrochètes sont effilés; les microchètes, au contraire, sont en forme de glaives: on distingue nettement une moëlle à extrémité pointue et une enveloppe à apex arrondi. La différenciation des

microchètes est particulièrement frappante chez cette espèce. Ant. IV avec 8 poils olfactifs allongés. Deux yeux de chaque côté. Griffes inermes.

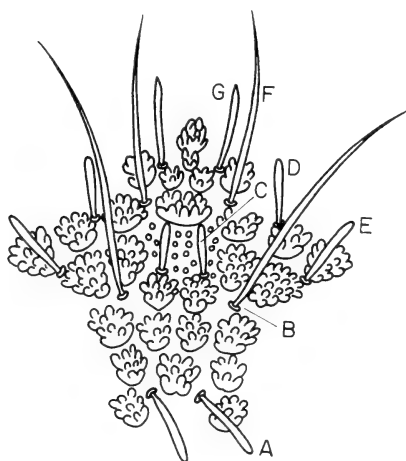


FIG. 7.

*Neanura decolorata* n. sp.

Tubercules céphaliques central et apical.

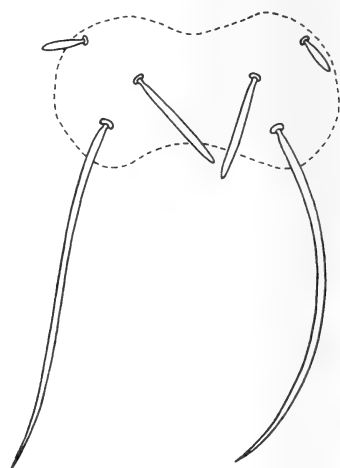


FIG. 8.

*Neanura decolorata* n. sp.

Tubercule médian abd. V.

Station. — Petit Salève (Haute-Savoie, France) au-dessus de Monnetier, 850 m alt., pente Sud, chênaie mélangée; litière de feuilles mortes, 21-V et 23-VII 1963, holotype et 3 paratypes au Muséum de Genève (Kb89), 1 paratype au British Museum, 1 paratype au Musée zoologique de Coimbra.

#### C. QUATRE ESPÈCES NOUVELLES DU GENRE *Onychiurus*

##### 1. *Onychiurus papulosus* n. sp.

Position systématique. — C'est une espèce alpine à pseudocelles multiples, à postantennal composé, à sensilles ant. III granuleux, et sans épines anales. Elle se place apparemment très près de *O. bertrandi*, dont elle se distingue par la présence de 2 pseudocelles seulement sur chaque base antennaire (et 1 ps. oc. plus en

arrière; *bertrandi* en a 3 ou 4 et 1 en arrière); le sternite abd. III n'a toujours qu'une seule paire de pseudocelles (comme chez *lenticularius*, tandis que *fistulosus* et *perforatus* en ont au moins 3 paires). *O. papulosus* n. sp. n'a pas de pseudocelles ventraux à la tête, ni sur le sternite génital (contrairement à *fistulosus* et à *perforatus*) et il ne possède pas non plus les deux paires de pseudocelles derrière le postantennal qui sont si typiques chez *fistulosus*. Cette dernière espèce avait été découverte dans le Jura, puis retrouvée dans quelques grottes des Alpes (Beatushöhle/Thunersee, Lauiloch/Schwyz, Höllgrotten/Zoug, voir AELLEN et STRINATI 1962); j'ai encore une fois vainement cherché des différences entre les populations jurassienne et alpine de *fistulosus*, et je suis convaincu que les espèces mentionnées ci-dessus sont différentes, bien que taxonomiquement et géographiquement voisines (une cinquantaine de km à vol d'oiseau entre *papulosus* et *perforatus*, moins de cent km entre *papulosus* et *fistulosus*).

Description. — Taille: 1,2-1,6 mm (donc nettement plus petit que *fistulosus* et *bertrandi*). Granulation cunctanée presque uniforme; bases antennaires à peine individualisées. Je n'ai observé un nombre constant de ps. oc. qu'au bord antérieur de la tête (2 sur chaque base antennaire et 1 en arrière, les trois formant un triangle à peu près équilatéral) et au sternite abd. III (1 + 1, très latéraux). A la face ventrale de la tête, il n'y a pas de ps. oc., ni sur la partie moyenne de la tête derrière le postantennal, ni sur les sternites génital et anal. Sur les autres parties du corps, les ps. oc. sont disposés comme chez *fistulosus* (cf. fig. 259 in GISIN 1960). Dans les moitiés antérieures des tergites, il n'y a donc de ps. oc. que sur les côtés, jamais vers la région médiane. Pour les sternites abdominaux, la formule normale de ps. oc. semble être 33130; toutefois les irrégularités sont très fréquentes, sauf sur le sternite III. Tube ventral avec, de chaque côté, une dizaine de poils submarginiaux et 1 poil latéral. Organe ant. III avec 5 papilles et deux sensilles latéraux granuleux; la granulation de ceux-ci semble toutefois incomplète et irrégulière, de sorte que leur canal central reste nettement visible. Postantennal avec une dizaine de bosses composées. Griffes sans dents latérales, une faible dent interne est parfois développée. Empodium graduellement effilé, dépassant l'apex de la griffe. Pas trace de furca ni d'épines anales. Mâle sans caractères sexuels secondaires.

**Station.** — Unter-Rotloch, grotte dans la commune d'Avers, Grisons (Suisse), 2550 m alt. (cf. STRINATI et AELLEN 1964). 9 exemplaires leg. Aellen et Strinati, 8-VIII-1963 (holotype et paratypes au Muséum de Genève, Gz 137).

## 2. *Onychiurus bosnarius* n. sp. (fig. 9-11)

**Justification.** — Les organes sensoriels et le nombre des pseudocelles dorsaux se présentent comme chez *scotarius*. Mais à la face ventrale, il y a une paire de pseudocelles de plus à la tête et au sternite abd. I (fig. 9). En outre, *bosnarius* n. sp. possède un poil  $M_1$  sur l'abd. IV (fig. 10), qui manque à *scotarius* et à *ossarius*.

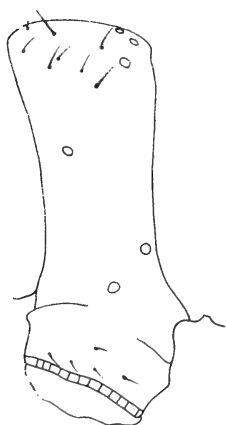


FIG. 9.

*Onychiurus bosnarius*  
n. sp.

Abd. I, côté gauche,  
de profil.

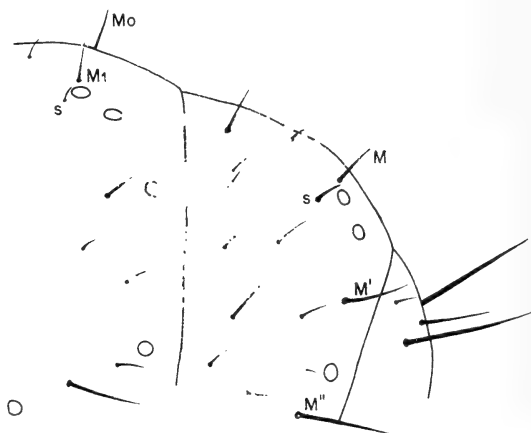


FIG. 10.

*Onychiurus bosnarius*  
n. sp.

Abd. IV-VI, de profil,  
pseudocelles et poils environnants.

**Description.** — Taille: 1,2-1,5 mm, donc relativement petite. Bases antennaires individualisées par une granulation cutanée plus fine. Pseudocelles dorsaux 32/033/33353 (fig. 10, 11), ventraux 3/022/3212, subcoxes 2.  $M/s$  (abd. V, fig. 10) = 1,5 (chez *scotarius* au moins = 2);  $M'$  (abd. V) est presque aussi long que  $M''$  (10/12, fig. 10; chez *scotarius*  $M' = M''$ ). La chétotaxie entre les

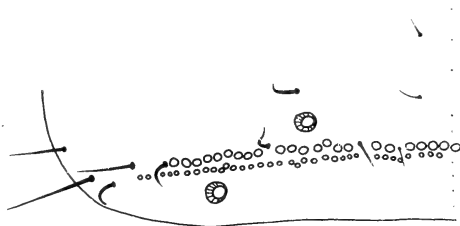


ps. oc. du bord postérieur de la tête (fig. 11) est la même chez *scotarius*, *bosnarius* et *ossarius*. A la face ventrale de la tête, les ps. oc. sont disposés comme chez *silvarius* (fig. 273 in GISIN 1960); par rapport à *scotarius*, le ps. oc. supplémentaire est le postéro-médial. Les sternites thoraciques II et III portent chacun une paire de ps. oc. distincts sur le bourrelet transversal intermédiaire, et une paire rudimentaire sur le bourrelet postérieur. Sur les sternites abdominaux, la disposition des ps. oc. est aussi semblable à celle de *silvarius*, à l'exception de l'absence de la paire médiale sur abd. III.

FIG. 11.

*Onychiurus bosnarius*  
n. sp.

Bord postérieur de la tête, moitié gauche. Pseudocelles, poils, dernière rangée de gros grains et première rangée de petits grains.



Organe ant. III à 2 sensilles lisses, inclinés, protégés par 5 papilles. Postantennal divisé en une quinzaine de bosses composées. Griffes sans dents internes, mais pourvus d'une paire de petites dents latérales. Empodium sans lamelle. Ni furca ni épines anales. Deux mâles de 1,4 mm de taille ne présentaient pas de soies ventrales modifiées.

Station. — Yougoslavie, Igman, Veliko Polje, dans la forêt, 4-VII-1960, 6 adultes et 1 juvénile leg. J. Živadinović. (Types au Muséum de Genève, Na 18).

### 3. *Onychiurus ossarius* n. sp. (fig. 12-14)

Justification. — Les pseudocelles dorsaux sont semblables à ceux de *scotarius* et *bosnarius*. Sur les sternites abdominaux, en revanche, il y a de petites différences: abd. III porte 2 paires de ps. oc. (au lieu d'une seule paire), et la disposition des ps. oc. à la base du tube ventral est inhabituelle: chez *bosnarius*, *silvarius* et d'autres espèces à 3 + 3 ps. oc. au sternite abd. I, un premier se trouve sur le flanc du tube ventral et un deuxième près du bord postérieur (cf. fig. 9); ici, ce deuxième ps. oc. est rapproché du

premier (fig. 12) et ne forme donc pas, avec le troisième (latéral), le triangle caractéristique des autres espèces. Une autre particularité de *ossarius* n. sp. est la brièveté du poil  $M'$  (abd. V, fig. 13) qui est un microchète à peine plus long que le microchète  $s$ ; j'avais signalé autrefois (GISIN 1952) semblable particularité chez *O. imperfectus* (fig. 275 in GISIN 1960). Enfin, un caractère différentiel rarement observé dans le genre est la présence de 3 pseudocelles sur les subcoxes II et III (fig. 14).

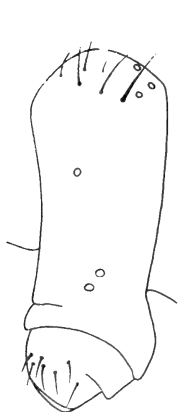


FIG. 12.

*Onychiurus ossarius*  
n. sp.

Abd. I, côté gauche,  
de profil.

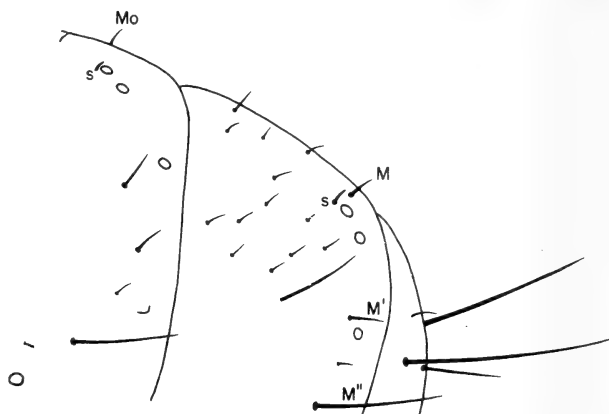


FIG. 13.

*Onychiurus ossarius*  
n. sp.

Abd. IV-VI, de profil, pseudocelles  
et poils environnants.

Description. — Taille: 1,7-2,5 mm, donc la plus grande de ces trois espèces voisines (c'est probablement une conséquence de la vie cavernicole de *ossarius* n. sp.). Bases antennaires individualisées par une granulation plus fine. Pseudocelles dorsaux 32/033/33353 (fig. 13), ventraux 3/022/3222, subcoxes 233. Le ps. oc. supplémentaire des subcoxes II et III, par rapport à la plupart des autres espèces, est le ps. oc. postéro-inférieur (en dessous du macrochète, fig. 14).  $M/s$  (abd. V, fig. 13) = 1,2; donc les deux presque de la même longueur. Abd. IV sans poil  $M_1$  (fig. 13, cf. fig. 10).  $M'/M''$  (abd. V, fig. 13) =  $\frac{1}{4}$ . Chétotaxie entre les ps. oc. du bord postérieur de la tête comme chez *bosnarius* (fig. 11), toutefois le contraste

entre les grands et les petits grains cutanés est moins net. Ps. oc. de la face ventrale de la tête et du thorax comme chez *bosnarius*. Organe ant. III à 2 sensilles lisses, inclinés, protégés par 5 papilles et 5 poils. Postantennal divisé en environ 25 bosses composées. Griffes sans dent interne, mais pourvues d'une paire de dents latérales. Empodium graduellement effilé. Ni furca, ni épines anales. Pas trace de caractères sexuels secondaires chez les mâles.

Station. — Italie: Grotta degli Scheletri (L'Aquila, Abruzzes), à 40 m de profondeur, 10-IX-1962, 9 exemplaires leg. M<sup>me</sup> M. Bortolotti (holotype et paratypes au Muséum de Genève (Md 20).

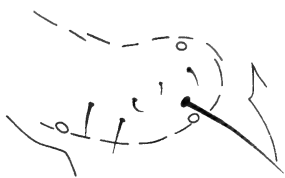


FIG. 14.

*Onychiurus ossarius* n. sp.Subcoxe III,  
vu du côté gauche.

#### 4. *Onychiurus defensarius* n. sp. (fig. 15-16)

Justification. — La nouvelle espèce forme un groupe naturel avec *O. dunarius*, *cebennarius*, *austriarius* et *vercorarius*,

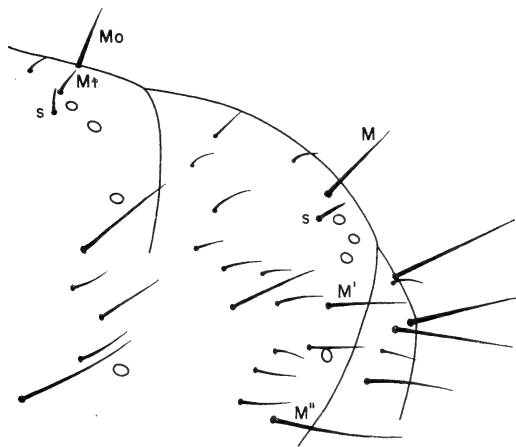


FIG. 15.

*Onychiurus*  
*defensarius* n. sp.Abd. IV-VI, de profil,  
pseudocelles  
et poils environnants.

caractérisé par la formule des pseudocelles dorsaux 32/133/33354 et par le poil M' de l'abd. V (fig. 15) qui est un macrochète. *O. defensarius* n. sp. se distingue de toutes: 1° par l'absence de la paire

médiale postérieure de ps. oc. ventraux de la tête, 2° par l'absence de ps. oc. distincts sur la base du tube ventral, 3° par l'existence sur abd. IV d'un poil  $M_1$  (fig. 15) qui n'est guère plus long que le sensille devant les ps. oc. médiaux. Ce poil  $M_1$  est défini comme étant une soie placée sur une ligne droite entre le sensille  $s$  et le macrochète médian postérieur  $M_0$ . Chez *O. cebennarius* et *vercorarius*, ce poil  $M_1$  manque; chez *O. dunarius* et *austriarius*, il est presque aussi long que le macrochète  $M_0$ .

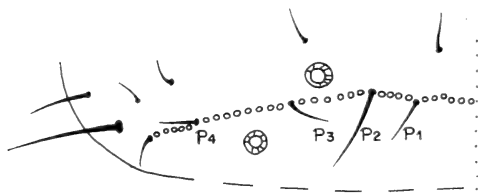


FIG. 16.

*Onychiurus defensarius* n. sp.

Bord postérieur de la tête, moitié gauche. Pseudocelles, poils et dernière rangée de gros grains.

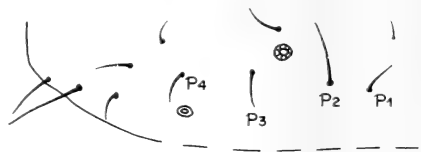


FIG. 17.

*Onychiurus austriarius*.

Bord postérieur de la tête, moitié gauche.

La position du pseudocelle externe du bord postérieur de la tête fournit un caractère jusqu'à présent négligé dans ce groupe d'espèces: le ps. oc. externe est relativement rapproché du ps. oc. interne chez *defensarius* n. sp. et *vercorarius* (fig. 16, ps. oc. entre les poils  $p_3$  et  $p_4$ ); il est au contraire éloigné chez *austriarius*, *cebennarius* et *dunarius* (fig. 17, ps. oc. derrière le poil  $p_4$ ).

Description. — Taille: 1,6-2,0 mm. Blanc. Bases antennaires nettement individualisées par une granulation cutanée plus fine. Ps. oc. dorsaux 32/133/33354, ventraux 2/011/1212, subcoxes 2; parfois on observe une paire supplémentaire de ps. oc. rudimentaires sur le grand bourrelet postérieur des sternites thoraciques II et III, et une autre à la base du tube ventral. Au sternite abd. III, il n'y a que la paire externe de ps. oc. Le macrochète médial de l'abd. V (M, fig. 15) est relativement long: environ 2,5 fois la longueur du sensille  $s$  (même rapport de longueur chez *cebennarius*, tandis que chez *dunarius*, *austriarius* et *vercorarius*  $M/s = 1,6-1,8$ ). Bord postérieur de la tête voir fig. 16. Organe ant. III à 2 sensilles latéraux lisses, inclinés, protégés par 5 papilles assez élancées et par 5 soies.

Postantennal long, pourvu d'une bonne quinzaine de bosses composées. Griffes sans dent interne, mais munies d'une paire de petites dents latérales. Empodium graduellement effilé, atteignant au moins l'extrémité de la griffe. Pas trace de furca, ni d'épines anales. Un mâle de 1,6 mm ne montre pas de soies ventrales modifiées.

Station. — Italie: grotta della Difesa, Opi, (L'Aquila, Abruzzes) 4 exemplaires leg. M<sup>me</sup> M. Bortolotti, 5-3-1963 (holotype et un paratype au Muséum de Genève, Md 24, 2 paratypes dans la collection Bortolotti).

D. *Entomobrya puncteola* UZEL, 1891

Syn. *E. dorsalis* Uzel, 1891.

STACH (1955: 167) a démontré que les deux noms proposés par UZEL en 1891 s'appliquaient en réalité respectivement au mâle et à la femelle d'une seule espèce, qu'il a choisi à cette occasion d'appeler *puncteola*. Ce faisant, il a agit en tant que « premier reviseur » au sens de l'article 24a du Code international de nomenclature zoologique, fixant définitivement le nom spécifique à retenir. Il ne peut donc plus revenir sur cette décision, comme il voudrait maintenant le faire sans raison valable (STACH 1963: 99). Ce serait d'autant plus malencontreux que sa première décision a déjà été appliquée par GISIN 1960 et 1961, NOSEK 1962 et NOSEK et LICHARD 1962.

## BIBLIOGRAPHIE

- AELLEN, V. et P. STRINATI, 1962. *Nouveaux matériaux pour une faune cavernicole de la Suisse*. Rev. suisse Zool. 69: 25-66.
- GISIN, H. 1944. *Materialien zur Revision der Collembolen. II. Weiteres Basler Material*. Mitt. schweiz. ent. Ges. 19: 121-156.
- 1952. *Notes sur les Collemboles, avec démembrement des Onychiurus armatus, ambulans et fimetarius auctorum*. Mitt. schweiz. ent. Ges. 25: 1-22.
- 1960. *Collembolenfauna Europas*. Genève, Mus. Hist. nat. 312 S.
- 1963. *Collemboles d'Europe. V*. Rev. suisse Zool. 70: 77-101.
- 1963. *Collemboles cavernicoles du Jura méridional et des chaînes subalpines dauphinoises*. Ann. Spéléol. 18: 271-286.
- HANDSCHIN, E. 1924. *Die Collembolenfauna des schweizerischen Nationalparks*. Denkschr. schweiz. naturf. Ges. 60: 89-174.

- STACH, J. 1955. *Collembola* in: Klucze do Oznaczania Owadow Polski, Warszawa II: 1-215.
- 1963. *The Apterygotan Fauna of Poland in relation to the World-Fauna of this group of Insects. Tribe Entomobryini.* Krakow p. 1-126.
- STRINATI, P. et V. AELLEN. 1964. *Deux grottes des Grisons (val D'Avers). Cavernes* (Bull. Sect. neuchâtel. Soc. suisse Spéléol.) 8: 6-9.
-

## Etudes sur les chromosomes d'*Ellobius lutescens*

(*Mammalia* — *Muridae* — *Microtinae*)

### II. Informations complémentaires sur les divisions méiotiques<sup>1</sup>

par

**Robert MATTHEY**

Université de Lausanne. Laboratoire de Zoologie  
et d'Anatomie comparée

Avec 17 figures dans le texte.

#### INTRODUCTION

*Ellobius lutescens* Th. possède 17 chromosomes dans les deux sexes, l'élément impair étant métacentrique et le plus petit du complément (MATTHEY, 1953, 1954, 1957, 1958, 1962). Selon une suggestion de WHITE (1957), cet élément serait formé, chez la ♀, des deux **X** unis proximatement, chez le ♂, de l'**X** et de l'**Y** également soudés. Les gamètes contiendraient 8 ou 9 chromosomes, les deux catégories étant produites en quantités égales par le ♂ et par la ♀: seuls, les zygotes (8 + 9) seraient viables, les formules (8 + 8) et (9 + 9) étant létales. Pour un petit Rongeur doué d'une haute fécondité, la perte de la moitié des zygotes est sans importance et serait compensée par l'assurance de soins meilleurs donnés à des survivants moins nombreux.

<sup>1</sup> Travail subventionné par le Fonds national suisse de la Recherche scientifique.

Cette conception a été acceptée par MATTHEY. Cependant, en raison de la microorchidie et de la production extraordinairement faible de spermatozoïdes, la préréduction du chromosome impair à l'anaphase I n'a été observée que dans un seul cas (MATTHEY, 1953, page 68, fig. 13) et l'existence de spermatocytes II à 8 chromosomes n'a pas été démontrée. De la méiose chez la ♀, nous ne savons rien. Je me suis donc efforcé, au cours de ces dernières années, de compléter la documentation relative à la méiose d'*Ellobius lutescens*: une centaine de ♂♂ dont les testicules ont été «squashés» et colorés à l'hémalun acide après prétraitement à l'eau distillée et fixation à l'acide acétique 50%; une vingtaine de ♀♀ dont les ovaires, fixés au Flemming-Heitz ont été débités en coupes sériées, celles-ci étant colorées à l'hématoxyline ferrique ou à la fuchsine de Feulgen, constituent la base du présent travail. En raison du petit nombre de stades favorables dans le testicule; en raison aussi de la difficulté de trouver et d'interpréter les rares divisions de maturation rencontrées dans des coupes d'ovaires, ce matériel considérable n'a livré que peu d'images utilisables mais permet cependant de combler quelques-unes des lacunes de mes travaux antérieurs.

Le problème de la détermination du sexe chez *Ellobius lutescens* revêt une actualité nouvelle en raison des observations faites chez un autre *Microtinae*, *Microtus oregoni* Bachman: MATTHEY (1956, 1957, 1958) montra que ce Campagnol possède, comme *Ellobius lutescens*, 17 chromosomes dans les deux sexes, ce nombre ayant été établi dans les mitoses spermatogoniales du ♂ et dans les mitoses somatiques de la ♀ (cinèses folliculaires ovariennes et lymphocytaires spléniques). L'élément impair, tout en étant le plus petit du complément, diffère de celui d'*Ellobius lutescens* en ce que, métacentrique chez la ♀, il est acrocentrique chez le ♂. Il était naturel d'étendre l'interprétation de WHITE à *Microtus oregoni*, ce que je fis en considérant que le métacentrique de la ♀ était formé de deux X soudés proximalelement, que l'acrocentrique du ♂ résultait de l'association de l'X (bras long) et de l'Y (bras court). Cette généralisation de l'hypothèse de WHITE est remise en question par des observations récentes de S. OHNO (1963). Cet auteur, réétudiant *Microtus oregoni*, confirme les données de MATTHEY mais, dans les divisions somatiques du ♂, que ce dernier n'avait pas examinées, il compte 18 et non 17 chromosomes. Les microphotos illustrant le



travail ne laissent aucun doute à cet égard, non plus que sur l'existence de spermatocytes II à 8 et à 9 chromosomes dont j'avais antérieurement donné plusieurs figures (1957).

De ces seuls faits, OHNO propose l'interprétation suivante: l'élément impair serait l'**X**, chez la ♀, l'**Y** chez le ♂. Ce dernier proviendrait d'un zygote **X-Y** ( $2N = (8 + X) + (8 + Y = 18)$ ) et maintiendrait cette constitution dans les lignées somatiques, alors que, dans les cellules germinales, l'**X** serait éliminé, d'où:  $2N = 16 + Y = 17$ . A la méiose, le ♂ donne des gamètes à (8) et à (8 + **Y**) en proportion égales, ce dernier point étant prouvé par l'existence des spermatocytes II à 8 et à 9 chromosomes. Les spermatozoïdes **Y** détermineraient le sexe mâle, les spermatozoïdes *O* le sexe femelle. En effet, le zygote femelle aurait 17 chromosomes ( $2N = (8 + X) + (8) = 17$ ) et le soma femelle conserve cette formule. Mais, lorsque les cellules germinales se différencient en ovogonies, surviendrait une non-disjonction de l'**X**, les ovogonies ayant alors 18 chromosomes, soit (16 + 2**X**). La méiose normale livrerait des ovules ayant tous les constitution (8 + **X**).

Ce mécanisme, aussi aberrant que celui supposé par WHITE et par moi-même être à l'œuvre chez *Ellobius lutescens*, en diffère beaucoup. Il est bon de rappeler quels sont, dans les deux cas, les faits précis sur lesquels se fondent les hypothèses et de distinguer clairement ceux-là de celles-ci. En utilisant les compléments d'information exposés dans le présent travail, voici le résumé des faits.

	2N Soma	2N Germen	Méiose
<i>E. lutescens</i> { ♂	17	17	Préréduction de l'élément impair à l'anaphase I. Métaphases II à 8 et 9. Division de l'élément impair à l'anaphase II. 8 bivalents et un univalent à la diacinèse. Métaphases II à 9 chromosomes.
♀	17	?	
<i>M. oregoni</i> { ♂	18	17	Métaphases II à 8 et à 9 chromosomes.
♀	17	?	



FIG. 1-7.

*Ellobius lutescens* ♂. Comportement du chromosome impair au cours de la première division de maturation. Fig. 1 et 2: métaphase. Fig. 3-5: Anaphase. Fig. 6-7: Télophase.  $\times 4.800$ .

## OBSERVATIONS PERSONNELLES

Passons maintenant à la présentation des observations nouvelles qui me permettent de confirmer les indications de mon travail de 1953 en ce qui concerne la méiose du ♂, de présenter quelques rares données sur la méiose de la ♀.

Méiose chez le ♂. — La figure 1 montre la métaphase I avec l'élément impair situé passablement en dehors de la constellation des bivalents autosomiques. La figure 2 se rapporte à une métaphase avancée, l'élongation de plusieurs tétrades étant manifeste; de l'élément impair sort une fibre fusorielle dirigée vers un pôle et qui peut être suivie sur une longueur de 3  $\mu$  environ. La figure 3 montre avec une clarté remarquable une anaphase I à son début: séparées en deux groupes sis de part et d'autre du plan équatorial, nous voyons 10 dyades résultant de la division de cinq des tétrades; un bivalent est encore indivis, maintenu entier par un  $\chi$  en voie de liquidation, alors que deux autres présentent des dyades unies encore par un demi- $\chi$ . L'élément impair, massif, ne montre pas de précession mais au contraire un certain retard dans son ascension polaire. Dans la figure 4, il est difficile de compter les dyades très étirées; la fibre fusorielle unique allant du centromère de l'élément impair à l'un des pôles s'observe distinctement sur un trajet de 8  $\mu$ . Les dyades autosomiques se réunissent ensuite (fig. 5) cependant que l'élément impair est parvenu au niveau de l'une des couronnes anaphasiques avec laquelle il est en rapport par une fibre de 6  $\mu$ . La figure 6 permet de compter les dyades à chaque pôle: elles sont au nombre de 8 dans l'une, de 9 dans l'autre, le chromosome sexuel étant, dans cette dernière, aisément reconnaissable à sa taille exiguë. Plusieurs dyades autosomiques manifestent déjà une anticipation centromérique (MATTHEY, 1945) en ce que le kinétochore apparaît divisé. Enfin, dans la figure 7, nous avons affaire à une télophase aux deux pôles de laquelle les chromosomes, fortement contractés, sont faciles à dénombrer, soit 8 et 9.

Cette série de figures permet d'affirmer que le passage de l'élément impair à un pôle de l'anaphase I est bien établi.

Aux dessins de métaphases II contenant 9 chromosomes que j'ai présentés en 1954, j'ajoute ici les figures 8 et 9 qui démontrent

le division précoce du chromosome sexuel. Les figures 10-14 sont alors des métaphases II dépourvues de cet élément et ne renfermant que 8 chromosomes. Ce n'est que dans la figure 13 que les deux chromatides de chaque dyade sont encore intimement unies

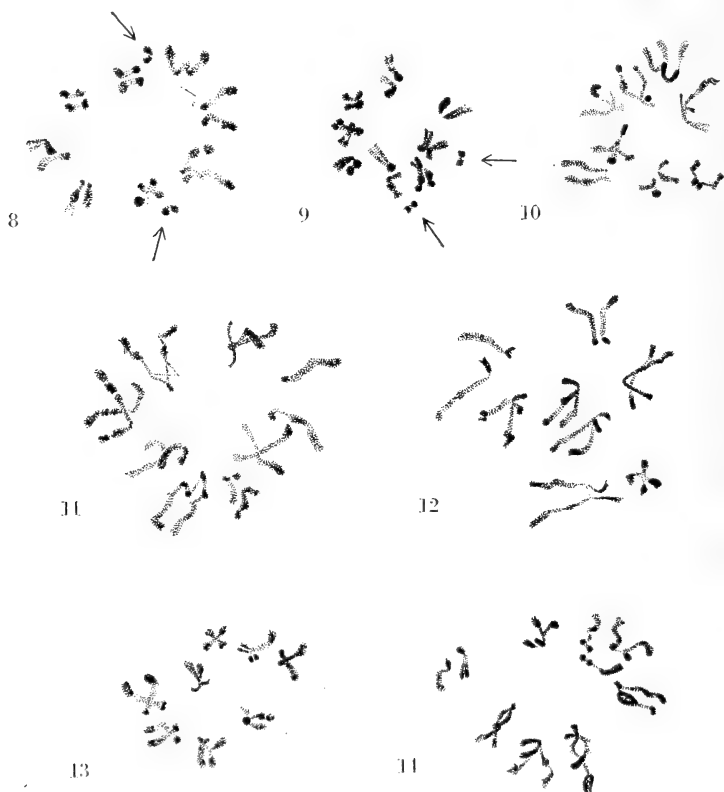


FIG. 8-14.

*Ellobius lutescens* ♂. Métaphases de la deuxième division de maturation.

Fig. 8-9: avec 9 chromosomes. Fig. 10-14: avec 8 chromosomes.  $\times 1.800$ .

par le centromère. Celui-ci se montre déjà divisé dans deux dyades de la figure 10, quatre de la figure 11, trois de la figure 12, deux de la figure 14. Il ne faut cependant pas perdre de vue le fait que le mode de préparation («squashing») pourrait être responsable de cette division anticipée du centromère. A mon avis, c'est cependant à un «artifice significatif» que nous avons affaire, car, chez

la plupart des espèces de *Muridae* que j'ai étudiées d'après des préparations élaborées avec la même technique, cette anticipation n'apparaît pas ou très rarement.

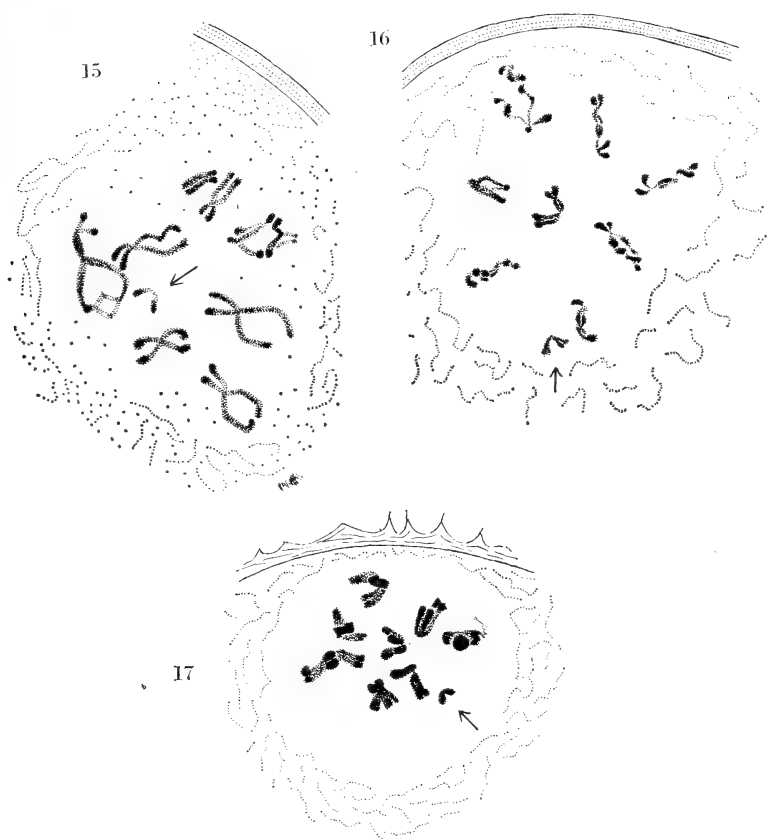


FIG. 15-17.

*Ellobius lutescens* ♀. Divisions de maturation. Fig. 15: Diacinèse. Fig. 16: Prophase de la deuxième division de maturation. Fig. 17: Métaphase de la deuxième division de maturation.  $\times 3.000$ .

Méiose chez la ♀. — La figure 15 permet d'affirmer que la diacinèse aboutit à la formation de 8 bivalents et d'un univalent. Une prophase II (fig. 16) montre neuf dyades fissurées aux chromatides grossièrement spiralées et sans qu'apparaisse l'anticipation centromérique. La figure 17 se rapporte à une métaphase II. Les éléments sont fortement condensés; la présence du polocyte I dans

la coupe adjacente rend certaine l'identification de cette division qu'on pourrait, à première vue, confondre avec une métaphase I. Il est par ailleurs évident que les deux cas illustrés par les figures 16 et 17 n'excluent en rien la possibilité de rencontrer des ovocytes II à huit chromosomes dont l'existence est très probable.

## CONCLUSIONS

Il résulte de ce qui précède que la conception de WHITE demeure entièrement compatible avec les faits cytologiques actuellement connus chez *Ellobius lutescens*. Par contre, l'extension de cette conception au cas de *Microtus oregoni*, extension proposée par MATTHEY (1959), n'est pas en accord avec la découverte faite par OHNO de 18 chromosomes dans les lignées somatiques mâles. Quelle que soit la valeur de l'interprétation d'OHNO, il apparaît certain qu'il n'est plus possible de considérer les deux mécanismes comme étant semblables.

Par ailleurs, le nombre diploïde 17 est le plus bas connu chez un Euthérien: ce nombre minimum, par comparaison avec les formules les plus fréquentes chez les Euthériens (de 40 à 56), n'a pu s'établir que par des translocations répétées: les *Microtinae* primitifs (*Clethrionomys*, *Dolomys*, *Phenacomys*) possèdent 56 chromosomes (MATTHEY, 1957), ce qui signifie que, en moyenne, un chromosome d'*Ellobius* correspond à trois chromosomes originels, puisque la longueur totale des chromosomes aboutés est la même chez *Clethrionomys glareolus* ( $2N = 56$ ), *Microtus ratticeps* ( $2N = 30$ ) et *Ellobius lutescens* ( $2N = 17$ ) (MATTHEY, 1953). Il n'est donc pas étonnant que l'abaissement du nombre diploïde entraîne des associations entre chromosomes sexuels et autosomes et aboutisse dans certains cas à des mécanismes aberrants de détermination sexuelle. Poursuivant mes études sur le polymorphisme chromosomique des *Leggada* (1963), je viens de découvrir un représentant de ce sous-genre de *Mus* doté, lui aussi, de 18 chromosomes. Bien qu'un couple X-Y typique soit conservé, la taille des hétérochromosomes et leur union méiotique par un  $\gamma$  milite en faveur de l'hypothèse, avancée déjà par moi en 1958, selon laquelle l'X et l'Y primitifs seraient transloqués sur une paire d'autosomes. Ce dernier cas qui fera l'objet d'une publication prochaine est cependant intéressant

pour notre propos en ce qu'il démontre qu'un nombre diploïde aussi bas que 18 n'entraîne pas forcément des mécanismes aberrants de détermination sexuelle, tels ceux décrits chez *Ellobius lutescens* et *Microtus oregoni*.

### SUMMARY

This paper furnishes some additional evidence to the meiosis of *Ellobius lutescens* ( $2N = 17$ ) and the behaviour of the odd element considered as a sex-chromosome. This element travels undivided to one pole of the first anaphase. The metaphases II are of two types, showing either 8 or 9 chromosomes. The sex-chromosome is precociously split and divided at the end of the metaphase II.

In the ♀, diakinesis shows 8 bivalents and the odd element as univalent. Metaphases II with 9 chromosomes were observed. The hypothesis of WHITE (1957) remains in good agreement with these facts.

In *Microtus oregoni*, the author demonstrated the presence of 17 chromosomes in the germ-cells of the ♂ and in the somatic cells of the ♀ (1956, 1958), OHNO (1963) confirms this but finds 18 chromosomes in the somatic cells of the ♂. It is probable that the White's hypothesis, valid for *Ellobius lutescens* does not apply to *Microtus oregoni*.

### ZUSAMMENFASSUNG

Diese Arbeit bringt neue Tatsachen über den Meiosisverlauf bei *Ellobius lutescens* ( $2N = 17$ ) und über das Benehmen des unpaaren Geschlechtschromosomes. Dieses Element wandert, ohne sich zu teilen, zu einem Pol der Anaphase I. Die Metaphasen II zeigen entweder 8 oder 9 Chromosomen. Das Sex-Chromosom teilt sich früh während der Metaphase II, jede Hälfte wandernd zu den entgegengesetzten Polen der Anaphase. Bei dem ♀, sind einige Stadien beobachtet worden, nämlich eine Diakinese mit 8 Bivalenten und einem Univalent, sowie zwei Metaphasen II mit 9 Chromosomen. Die Hypothese von WHITE (1957) steht in gutem Einklang mit diesen Tatsachen.

Bei *Microtus oregoni* zeigte der Verfasser (1956, 1958) die Anwesenheit von 17 Chromosomen in dem Germen des ♂ und in dem Soma des ♀. OHNO (1963) hat diese Zahlen nachgeprüft aber 18 Chromosomen in den somatischen Zellen des ♂ festgestellt. Es ist sehr wahrscheinlich, dass die Hypothese von WHITE, die im Fall von *Ellobius lutescens* gültig ist, nicht auf *Microtus oregoni* ausgedehnt werden kann.

#### AUTEURS CITÉS

- MATTHEY, R. 1945. *Cytologie de la parthénogénèse chez Pycnoscelus surinamensis* L. (Blattariae-Blaberidae-Panchlorinae). Rev. suisse Zool. 52: 1-109.
- 1953. *La formule chromosomique et le problème de la détermination sexuelle chez Ellobius lutescens* Thomas (Rodentia-Muridae-Microtinae). Arch. J. Klaus Stift. 28: 65-73.
- 1954. *Nouvelles recherches sur les chromosomes des Muridae*. Caryologia, 6: 1-44.
- 1957. *Cytologie comparée, systématique et phylogénie des Microtinae* (Rodentia-Muridae). Rev. suisse Zool. 64: 39-71.
- 1958. *Les chromosomes et la position systématique de quelques Murinae africains* (Mamalia-Rodentia). Acta tropica 15: 97-117.
- 1958. *Un nouveau type de détermination chromosomique du sexe chez les mammifères Ellobius lutescens* Th. et *Microtus* (*Chilotus*) *oregoni* Bachm. (Muridés-Microtinés). Experimentia 14: 240-241.
- 1959. *Formules chromosomiques de Muridae et de Spalacidae. La question du polymorphisme chromosomique chez les Mammifères*. Rev. suisse Zool. 66: 175-209.
- 1962. *Etudes sur les chromosomes d'Ellobius lutescens* Th. (Mamalia-Muridae-Microtinae). I. Essai critique sur la valeur des critères proposés par le « Système Denver » pour l'identification des chromosomes homologues. Cytogenetics 1: 180-195.
- 1963. *Polymorphisme chromosomique intraspécifique chez un Mammifère, Leggada minutoides* Smith (Rodentia-Muridae). Rev. suisse Zool. 70: 173-190.
- OHNO, S., JAINCHILL, J. and STENIUS, C. 1963. *The creeping vole (Microtus oregoni) as a gonosomic mosaic. I. The OY|XY constitution of the male*. Cytogenetics 2: 232-239.
- WHITE, M. J. D. 1957. *An interpretation of the unique sex-chromosome mechanism of the rodent Ellobius lutescens* Thomas. Proc. Zool. Soc. Calcutta. Mookerjee Memor. Vol. 113-114.



# Psélaphides paléarctiques

## Espèces nouvelles et notes synonymiques. II

### (*Coleoptera*)

par

**Claude BESUCHET**

Muséum d'Histoire naturelle de Genève

Avec 35 figures dans le texte.

C'est grâce à l'obligeance de MM. G. Binaghi (Gênes), C. Conci (Museo Civico di Storia Naturale, Milan), H. Franz (Vienne), H. Freude (Zoologische Sammlung des Bayerischen Staates, Munich), F. Hieke (Humboldt-Universität, Berlin), Z. Kaszab (Magyar Nemzeti Múzeum, Budapest), S. M. Khnzorian (Erivan) et H. Kulzer (Museum G. Frey, Tutzing) que j'ai pu étudier plusieurs des espèces nouvelles décrites ici et résoudre quelques problèmes de nomenclature. J'ai d'autre part reçu du Professeur J. Roubal (Prague) une série de Psélaphides intéressants, dont deux *Bryaxis* et deux *Tychus* nouveaux, en échange des Hétéroptères que j'ai récoltés en Espagne et au Maroc.

### ***Biblopectus franzi* n. sp.**

♂ Type: coll. Franz. Loc. typ. Kalinai. Paratypes: coll. Franz et coll. mea.

Long. 0,95 à 1,05 mm. Grêle, d'un brun rougeâtre foncé; pattes, palpes et antennes pâles; téguments lisses et brillants. Tête aussi large que le pronotum; yeux peu saillants, aussi longs que les tempes; articles antennaires 4 et 5 aussi longs que larges, 6 à 8 légèrement plus larges que longs. Pronotum à peine plus large que long.

atténué en arrière. Elytres réunis à peine plus longs que larges. Disque du métasternum légèrement aplani.

Caractères sexuels de la femelle. Dernier tergite de l'abdomen court, arrondi à l'apex. Caractères sexuels du mâle. Fémurs II légèrement renflés; tibias II prolongés sur leur bord interne par un éperon robuste égalant en longueur la largeur de l'extrémité tibiale. Opercule (fig. 1) (0,15 mm/0,07 mm) allongé, largement arrondi à l'apex, légèrement asymétrique chez les quatre exemplaires étudiés.

Edéage (fig. 2 et 3). Long. 0,27 à 0,28 mm. Style droit atrophié. Style gauche long, terminé en palette; apophyse dorsale grêle, falciforme; apophyse ventrale assez grande, brusquement coudée au milieu, terminée par deux dents robustes. Lobe interne long, simple à la base, terminé par deux dents, l'une assez longue et grêle, l'autre en forme de crochet robuste.

Grèce. Péloponnèse: environs de Kalinai, 4 ♂♂ 3 ♀♀ (Franz) dans des tamisages d'herbes très humides au bord d'un lac.

Cette espèce, dédiée au Professeur H. Franz, de Vienne, appartient au groupe de *minutissimus*; elle prend place près de *Biblopectus elegans* Bes. de Corfou. Elle est surtout bien caractérisée par son édéage.

### **Euplectus sparsus** n. sp.

♂ Type: coll. Binaghi. Loc. typ. Santuario d'Oropa. Paratypes: Prague, coll. Binaghi, Dodero et coll. mea.

Long. 1,5 à 1,6 mm. Coloration entièrement d'un brun rougeâtre clair. Tête nettement plus large que longue, légèrement moins large ou aussi large que le pronotum, un peu atténuée d'arrière en avant, nettement ponctuée entre les yeux et les fossettes interoculaires; moitié antérieure de la tête ornée d'une dépression peu profonde en forme de fer à cheval, limitée sur son bord interne par une surface légèrement convexe, sur son bord externe par un bourrelet peu élevé, bien plus large sur les côtés de la tête que sur son bord antérieur; une petite fossette profonde sur le bord postérieur des tubercules antennaires, sur le bourrelet latéral mais près du bord externe; fossettes interoculaires petites, très profondes, également distantes entre elles et des yeux; partie latérale des

tempes aussi longue que les yeux; région occipitale ornée d'une dépression légère et d'une petite carénule longitudinale; yeux bien développés. Antennes de longueur moyenne; scape et pédicelle nettement plus longs que larges; article 3 un peu plus long que large, 4 et 5 légèrement ou un peu plus larges que longs, 6, 7 et 8 nettement plus larges que longs, 9 nettement plus large que les articles précédents, bien plus large que long, 10 encore plus large, transverse, 11 un peu plus long que les trois articles précédents réunis. Pronotum légèrement ou un peu plus large que long, la plus grande largeur située un peu en arrière du tiers antérieur, nettement et assez régulièrement atténué jusqu'aux angles postérieurs, sa surface lisse et brillante; disque orné d'une petite fossette profonde, nettement plus longue que large, assez éloignée de la fossette médiane de la base du pronotum. Elytres réunis aussi larges que longs, nettement plus larges que le pronotum; callosité humérale saillante; base ornée de quatre fossettes bien marquées, subégales, les deux fossettes internes très rapprochées, la première étant prolongée par la strie suturale, les deux fossettes externes contiguës, celle du côté interne étant prolongée par la strie dorsale, marquée sur un peu moins de la moitié de l'élytre. Carénules des deux premiers tergites abdominaux légèrement divergentes, ne dépassant pas le milieu de ces deux segments, séparées à la base par un espace égal au quart de la largeur basale de ces segments. Face ventrale de la tête nettement et densément ponctuée. Prosternum ponctué de façon un peu plus légère. Métasternum orné, du tiers ou du quart antérieur de sa longueur jusqu'à son bord postérieur, d'un sillon peu profond.

Caractères sexuels du mâle. Trochanters III armés à la base de leur bord interne d'une petite dent; fémurs I, II et III un peu renflés; tibias II prolongés sur leur bord interne par un petit éperon. Avant-dernier sternite abdominal orné, sur son disque, d'une petite dépression triangulaire élargie d'avant en arrière, assez profonde, portant sur son bord antérieur une rangée de quelque douze épines.

Edéage (fig. 4). Long. 0,34 à 0,36 mm. Styles relativement peu développés, complètement soudés sur leur face ventrale pour former une sorte de fourreau enveloppant le sac interne; des soies assez nombreuses sur la partie dorsale droite de ce fourreau. Lobe interne très grand, élargi dans sa partie distale.

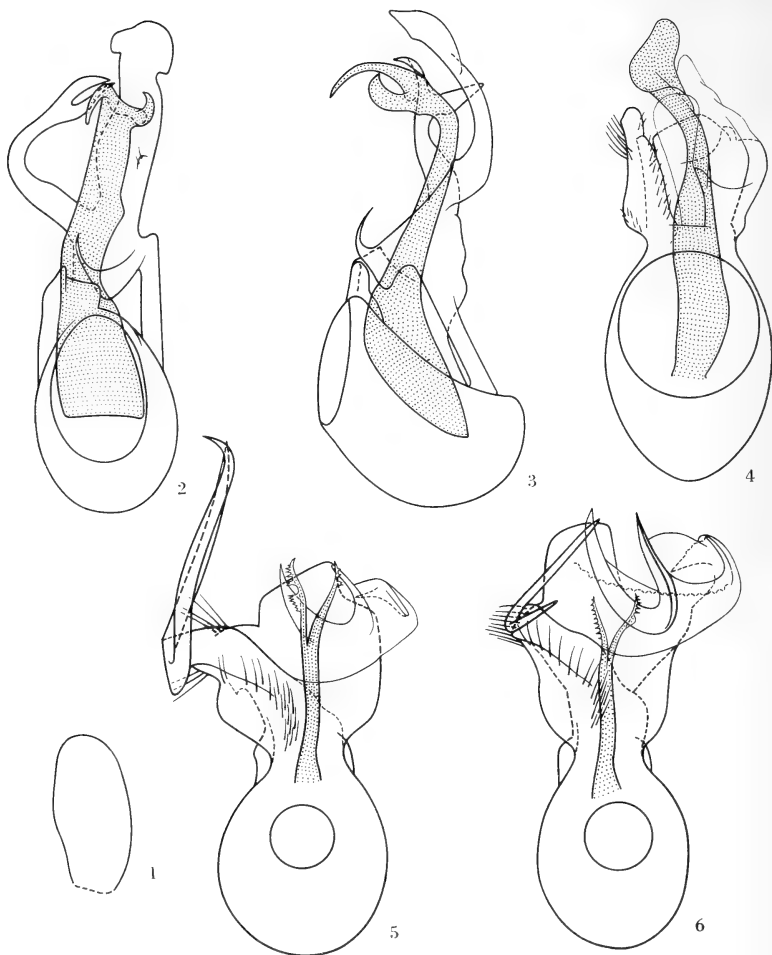


FIG. 1 à 6.

1. *Biblopectus franzi* n. sp., de Kalinai, opercule, face ventrale. — 2. *Id.*, édéage, face dorsale. — 3. *Id.*, face latérale. — 4. *Euplectus sparsus* n. sp., du Santuario d'Oropa, édéage, face dorsale. — 5. *Euplectus frater* n. sp., d'Iaila-Dagh, édéage, face dorsale. — 6. *Euplectus linderi* Reitt., des environs de Gênes, édéage, face dorsale.

Italie. Piémont: Santuario d'Oropa, dans les environs de Biella, 8 ♂♂ 6 ♀♀ (Dodero). De nombreux autres exemplaires de cette même localité dans les collections Dodero et Binaghi où ils portent l'indication « vicina *curvipes* Peyer. ». — Tchécoslovaquie. Bohême: Šatava, dans la Forêt de Bohême, 1 ♂

(Machulka). — U. R. S. S. Ukraine transcarpathique: Plaj, 1 ♂ (Machulka).

Cet *Euplectus* prend place près de l'espèce européenne *bescidicus* Reitt., entre les espèces nord-africaines *afer* Reitt. et *otini* Jeann. d'une part, *mussardi* Bes. et *curvipes* Peyer. d'autre part.

***Euplectus frater* n. sp.**

♂ Type: Museum Frey. Loc. typ. Iaila-Dagh. Paratypes: Museum Frey et coll. mea.

Long. 1,35 à 1,4 mm. Coloration entièrement d'un brun rougeâtre clair. Tête nettement plus large que longue, aussi large que le pronotum, un peu atténuée d'arrière en avant, nettement et densément ponctuée sauf sur le disque du lobe frontal et le bord antérieur de celui-ci, peu ou pas ponctués; moitié antérieure de la tête ornée d'une dépression en forme de fer à cheval, les branches latérales légères, la branche transversale large et assez profonde; cette dépression est limitée sur son bord interne par une surface légèrement convexe, sur son bord externe par un bourrelet peu élevé, bien plus large sur les côtés de la tête que sur son bord antérieur; une petite fossette profonde sur le bord postérieur des tubercules antennaires, sur le bourrelet latéral mais près du bord externe; fossettes interoculaires petites, assez profondes, également distantes entre elles et des yeux; partie latérale des tempes un peu moins longue que les yeux; région occipitale ornée d'une petite carénule longitudinale; yeux bien développés. Antennes de longueur moyenne; scape et pédicelle nettement plus longs que larges; article 3 aussi long que large, 4 et 5 un peu plus larges que longs, 6, 7 et 8 transverses, 9 nettement plus large que les articles précédents, transverse, 10 encore plus large, transverse, 11 un peu plus long que les trois articles précédents réunis. Pronotum aussi large ou à peine plus large que long, la plus grande largeur située un peu en avant du milieu, nettement et assez régulièrement atténué jusqu'aux angles postérieurs, sa surface lisse et brillante ou légèrement ponctuée sur le disque; celui-ci orné d'une fossette profonde, assez grande, nettement plus longue que large, assez rapprochée de la fossette médiane de la base du pronotum. Elytres réunis aussi larges que longs, nettement plus larges que le pronotum; callosité

humérale saillante; base ornée de quatre fossettes bien marquées, subégales, les deux fossettes internes très rapprochées, la première étant prolongée par la strie suturale, les deux fossettes externes contiguës, celle du côté interne étant prolongée par la strie dorsale, marquée presque jusqu'au milieu de l'élytre. Carénules des deux premiers tergites abdominaux légèrement divergentes, ne dépassant pas le milieu de ces deux segments, séparées à la base par un espace égal au quart de la largeur basale de ces segments. Face ventrale de la tête et prosternum nettement et densément ponctués. Méta-sternum orné, du quart antérieur de sa longueur jusqu'à son bord postérieur, d'un sillon peu profond.

Caractères sexuels du mâle. Fémurs II un peu renflés; tibias II prolongés sur leur bord interne par un petit éperon. Troisième sternite apparent de l'abdomen orné, sur son bord postérieur, de deux petits faisceaux de soies de longueur moyenne très rapprochés l'un de l'autre; avant-dernier sternite avec une dépression transverse profonde occupant toute la partie médiane du segment; près du bord postérieur de celui-ci, une dizaine d'épines disposées en arc de cercle.

Edéage (fig. 5). Long. 0,25 à 0,26 mm (épines du style droit comprises). Styles relativement peu développés, complètement soudés sur leur face ventrale pour former une sorte de fourreau enveloppant le sac interne; quelques soies sur la face dorsale du style droit, l'extrémité de celui-ci portant, outre quelques soies, deux épines très grandes dépassant nettement la lame ventrale formée par la fusion des deux styles. Lobe interne grêle, bifide.

Yougoslavie. Dalmatie: Castelnuovo, 1 ♀ (Paganetti). — Grèce. Corfou, sans indication plus précise, 1 ♂ (Paganetti). — U. R. S. S. Crimée: Iaïla-Dagh, 1 ♂ (Winkler); Baidar-Thor, 1 ♂ (Knirsch).

Les *Euplectus linderi* Reitt. et *frater* m., très semblables par la morphologie générale et les caractères sexuels, sont restés confondus jusqu'à ce jour. Le premier diffère du second par la taille un peu plus grande, par la ponctuation de la tête moins forte et surtout par l'édéage (fig. 6) (long. 0,23 à 0,25 mm); *linderi* n'est connu pour l'instant avec certitude que de l'extrême sud-est de la France et d'Italie. Seuls les mâles dont j'ai pu étudier l'édéage, pour éviter toute erreur d'identification, figurent dans la liste donnée ici.

France. Alpes-Maritimes: Mandelieu, 1 ♂ (Hervé); Vaugrenier, 1 ♂ (Hervé); Nice, 2 ♂♂ (Grouvelle, Ochs); Beaulieu, 2 ♂♂ (Fagniez). — Italie. Ligurie: Gênes et environs, 8 ♂♂ (Bensa, Solari). Vénétie: Brixen = Bressanone, 5 ♂♂ (von Peez). Emilie: Levizzano, 1 ♂ (Fiori); Croara près de Bologne, 1 ♂ (Fiori); Lesara, 1 ♂ (Fiori). Toscane: S. Antonio, 1 ♂ (Rangoni).

*Euplectus linderi* serait décrit de Grèce d'après RAFFRAY (1910: 226) et JEANNEL (1950: 119); il n'en est rien. REITTER (in BRENSKE et REITTER, 1884: 53) indique en effet clairement: « Diese Art beschreibe ich nach Exemplaren von Nizza, welche Grouvelle daselbst gesammelt hat. Zwei weibliche Ex., die Brenske in Kumani fand, scheinen zu ihr zu gehören ». JEANNEL constate que le type de Grèce du Muséum de Paris présente un édéage identique à celui qu'il a étudié chez un exemplaire de France. C'est certainement exact car ce type appartient nettement, par sa morphologie générale, à l'espèce localisée dans le sud-est de la France et en Italie. Mais à mon avis il n'a pas été trouvé en Grèce; il porte d'ailleurs deux étiquettes de provenance, « Grèce, Kumani » et « Nizza, Grouvelle »! En raison de toutes ces inexactitudes, je choisis pour lectotype de l'*Euplectus linderi* Reitt. un mâle appartenant à la collection Reitter du Muséum de Budapest; cet exemplaire, qui porte l'étiquette « Holotypus », a été récolté par Grouvelle à Nice.

### ***Plectophloeus binaghii* n. sp.**

♂ Type: coll. Binaghi. Loc. typ. Pollino-Premeno. Paratypes: Univ. Humboldt Berlin, Museum Frey, coll. Binaghi et coll. mea.

Long. 1,8 à 2,0 mm. Identique par la morphologie générale et les caractères sexuels du mâle (extrémité de l'abdomen un peu élargie et recourbée vers le bas; disque du dernier sternite très légèrement concave) aux *Plectophloeus erichsoni* Aubé et *fleischeri* Mach. Le dernier tergite de la femelle n'est pas prolongé par une épine robuste comme chez *fleischeri* mais simplement atténué de la base à l'apex comme chez *erichsoni*.

L'édéage de *binaghii* (fig. 7 et 8; long. 0,44 à 0,50 mm) diffère nettement de celui d'*erichsoni* (fig. 9; long. 0,47 à 0,50 mm) et de celui de *fleischeri* (fig. 10; long. 0,51 à 0,53 mm) par la capsule basale

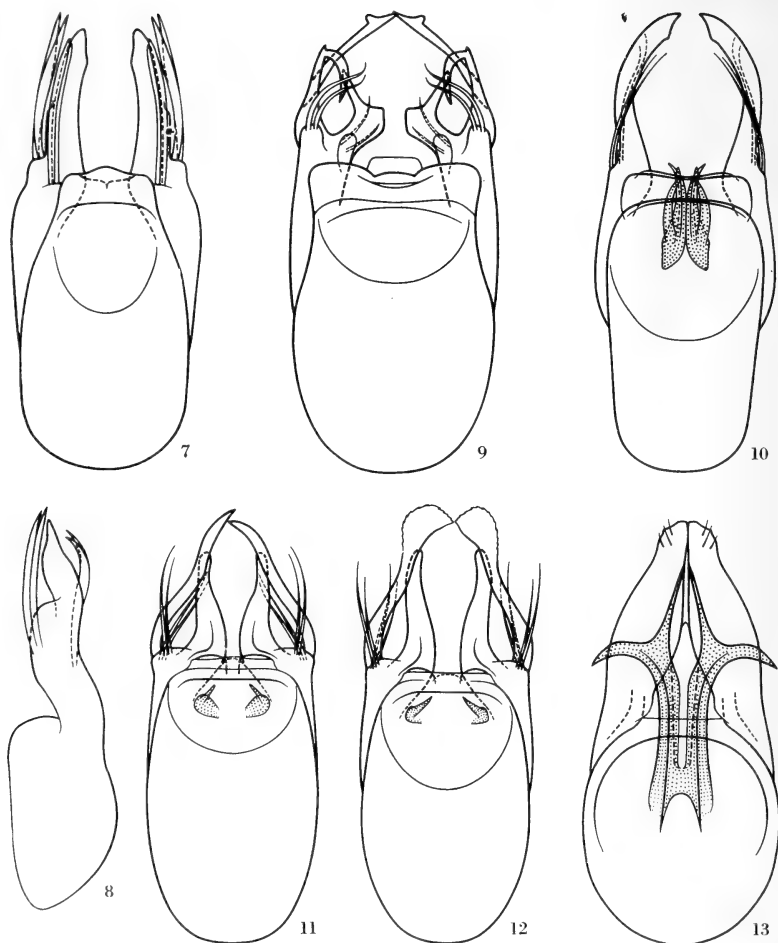


FIG. 7 à 13.

7. *Plectophloeus binaghii* n. sp., de Pollino-Premeno, édéage, face dorsale. — 8. *Id.*, style droit de l'édéage, face externe. — 9. *Plectophloeus erichsoni* Aubé, de Pressbaum près de Vienne, édéage, face dorsale. — 10. *Plectophloeus fleischeri* Mach., de Weisskirchen, édéage, face dorsale. — 11. *Plectophloeus nubigena bosnicus* n. ssp., de Krivosije, édéage, face dorsale. — 12. *Plectophloeus nubigena nubigena* Reitt., de Weisskirchen, édéage, face dorsale. — 13. *Bythinus icariensis* n. sp., de Nikaria, édéage, face dorsale.

un peu atténuée en arrière, par les styles robustes, simples, ornés chacun de quatre épines très grandes (ces épines sont particulièrement longues chez les exemplaires des Apennins) et par le sac interne inerme.



Italie. Piémont: Colle di Moud, entre Alagna et Rima, 1 ♀ (Breit); Santuario d'Oropa, 1 ♂ (Dodero); Pollino-Premeno, 2 ♂♂ 4 ♀♀ (Binaghi). Lombardie: Oltre il Colle, dans les Alpes bergamasques, 1 ♀ (Breit). Emilie: Gabellina près de Collagna, 8 ♀♀ (Solari); Acero, 1 ♂ (Fiori); Nuda, 1 ♀ (Fiori). Toscane: Bosco Lungo près de Pistoia, 1 ♂ (Solari); Toso, 1 ♂ (Fiori). Latium: Filettino, 3 ♂♂ (Dodero).

Les *Plectophloeus erichsoni* et *fleischeri* semblent assez largement répandus en Europe centrale; ils sont remplacés en Italie par l'espèce nouvelle décrite ici, dédiée à M. G. Binaghi, de Gênes.

Ajoutons pour terminer que *Plectophloeus fleischeri* n'est pas une variété femelle d'*erichsoni* mais une bonne espèce bien caractérisée par son édéage.

### ***Plectophloeus nubigena bosnicus* n. ssp.**

*Plectophloeus bosnicus* Apfelbeck i. l.

♂ Type: Museum Frey. Loc. typ. Krivosije. Paratypes: Budapest, Museum Frey et coll. mea.

Long. 1,35 à 1,5 mm. Identique par la morphologie générale et les caractères sexuels du mâle (disque du dernier sternite très légèrement concave, orné dans sa partie postérieure d'une carène longitudinale), à la forme typique d'Europe centrale. Chez la sous-espèce *bosnicus*, les styles de l'édéage (fig. 11; long. 0,30 à 0,33 mm) présentent chacun une longue apophyse terminée en pointe; chez la sous-espèce *nubigena* s. str. (fig. 12; long. 0,30 à 0,33 mm), l'extrémité de cette apophyse est au contraire toujours nettement dilatée.

*P. nubigena nubigena* Reitt. (= *nubigena gallicus* Jeann.) est assez largement répandu en Europe; je le connais des Hautes-Pyrénées jusque dans les Alpes de Transylvanie; c'est encore cette sous-espèce qui peuple les forêts du Ljuboten près de Skopje. *P. nubigena bosnicus* n'est connu pour l'instant que de la Bosnie-Herzégovine et du Monténégro.

Yougoslavie. Bosnie-Herzégovine: Ivan pl., 5 ♂♂ 3 ♀♀ (Apfelbeck); Stambulčić, 2 ♂♂ (Zoufal); Bosnie, sans indication plus précise, 2 ♂♂ 2 ♀♀ (Apfelbeck). Monténégro: Grahovo, 5 ♂♂ 3 ♀♀ (Fodor); Krivosije, 6 ♂♂ 4 ♀♀ (Paganetti).

**Bythinus icariensis** n. sp.

♂ Type: Budapest. Loc. typ. Nikaria. Paratypes: Budapest et coll. mea.

Long. 1,20 à 1,25 mm. Coloration entièrement d'un brun rougeâtre clair; pubescence formée de soies assez longues. Tête un peu plus large que longue, nettement moins large que le pronotum. Lobe frontal court, transverse, large de 0,14 mm, légèrement ponctué en arrière des tubercules antennaires, orné d'une dépression médiane assez profonde. Vertex parcouru dans toute sa longueur par une carénule bien marquée. Yeux relativement peu développés. Tempes arrondies. Articles 2 et 3 des palpes maxillaires ornés sur leur face ventrale de quelques granules; dernier article deux fois et demie plus long que large. Antennes de longueur moyenne; article 3 aussi long que large, 4 à 10 transverses, 11 légèrement plus long que les quatre articles précédents réunis. Pronotum légèrement plus large que long, la plus grande largeur (0,34 à 0,36 mm) située un peu en avant du milieu, nettement et régulièrement atténué jusqu'à la base, le disque non ponctué. Elytres réunis un peu plus larges que longs, la callosité humérale peu saillante, la ponctuation bien marquée quoique légère. Fémurs robustes.

Caractères sexuels du mâle. Dernier article des palpes maxillaires orné sur sa face dorsale, légèrement avant le milieu de sa longueur, d'un petit tubercule grêle, étroit mais nettement saillant. Scape simple, subcylindrique, deux fois plus long que large; pédicelle simple, très légèrement moins large que le scape, nettement plus long que large à une fois et demie plus long que large. Yeux formés chacun de quinze à dix-sept ommatidies. Fémurs nettement un peu renflés; tibias I ornés au quart apical d'une petite dent peu saillante; tibias III prolongés sur leur bord interne par un petit éperon.

Caractères sexuels de la femelle. Antennes semblables à celles du mâle. Yeux formés chacun de sept ommatidies.

Edéage (fig. 13). Long. 0,25 mm. Styles grêles, convergents, légèrement convexes dans la partie médiane de leur bord externe. Armature du sac interne bien développée, formée de deux tiges réunies à la base, terminées chacune par une longue pointe grêle et portant chacune, au tiers postérieur, une épine latérale robuste dont l'extrémité dépasse le bord externe des styles.

Grèce. Archipel des Sporades: Nikaria, 4 ♂♂ 1 ♀ (von Oertzen).

Cette espèce, étroitement apparentée aux *Bythinus hopffgarteni* Reitt., *novaki* Kar., *tener* Reitt., *petulans* Reitt., *vicinus* Bes. et *gracilis* Motsch., est surtout bien caractérisée chez le mâle par les fémurs renflés, par le pédicelle simple des antennes, enfin par la position et la forme du tubercule ornant le dernier article des palpes maxillaires.

***Bryaxis scherleri* n. sp.**

*Arcopagus allobrox* JEANNEL, 1950: 239, 266 (nec *allobrox* Croissandeau).

♂ (homéomorphe) Type: coll. mea. Loc. typ. Camoghè. Paratypes: coll. Scherler, Toumayeff et coll. mea.

Long. 1,5 à 1,6 mm. Coloration entièrement d'un brun rougeâtre peu foncé; pubescence formée de soies de longueur moyenne. Tête nettement plus large que longue, un peu moins large que le pronotum. Lobe frontal court, transverse, large de 0,15 mm, distinctement ponctué en arrière des tubercules antennaires, orné d'une dépression médiane peu profonde, atténuée dans sa partie antérieure. Vertex parcouru dans toute sa longueur par une carénule bien marquée. Yeux bien développés. Tempes arrondies. Articles 2 et 3 des palpes maxillaires ornés sur leur face ventrale de quelques granules; dernier article presque trois fois plus long que large. Antennes de longueur moyenne; article 3 nettement plus long que large, 4 et 5 à peine plus longs ou aussi longs que larges, 6 et 7 un peu plus larges que longs, 8 nettement plus large que long, 9 et 10 transverses, 11 aussi long ou un peu plus long que les quatre articles précédents réunis. Pronotum à peine plus large que long, la plus grande largeur (0,36 à 0,40 mm) située un peu en avant du milieu, nettement et régulièrement atténué jusqu'à la base, le disque non ponctué. Ponctuation des élytres plus ou moins légère, irrégulière, assez bien marquée cependant.

Caractères sexuels des mâles. Yeux nettement plus grands et plus saillants. Scape (fig. 14 et 15) assez renflé, légèrement plus long que large, subparallèle, orné dans la partie basale de sa face interne d'une petite touffe de soies très courtes. Pédicelle (fig. 14 et 15) assez renflé, ovalaire, légèrement moins large que le scape, à peine plus long ou légèrement plus long que large en vue dorsale.

aussi long ou à peine plus long que large en vue latérale, orné dans la partie basale de sa face ventrale d'une petite saillie arrondie. Elytres réunis aussi larges ou à peine plus larges que longs, la callosité humérale bien marquée. Mâle homéomorphe avec les fémurs non renflés, les tibias I légèrement échancrés au quart apical et les tibias III grêles, simples. Mâle cédimère avec les fémurs très renflés, les tibias I profondément échancrés au quart apical et les tibias III robustes, légèrement atténués dans la moitié apicale.

Caractères sexuels de la femelle. Yeux formés chacun d'une dizaine d'ommatidies. Scape simple, subcylindrique, une fois et demie plus long que large. Pédicelle simple, ovalaire, légèrement moins large que le scape, une fois et demie ou presque une fois et demie plus long que large. Elytres réunis un peu plus larges que longs, la callosité humérale plus ou moins marquée.

Edéage (fig. 16). Long. 0,39 à 0,41 mm. Capsule basale très grande de même que sa fenêtre membraneuse. Styles peu développés, grêles, convergents, ornés chacun d'une dent latérale sub-apicale peu saillante. Armature du sac interne formée de deux épines robustes, assez grandes, bien chitinisées.

Suisse. Tessin: sommet du Camoghè, à 2200 m d'altitude, 1 ♂ cédimère, 4 ♂♂ homéomorphes et 4 ♀♀ (Besuchet, Scherler, Toumayeff) (6 et 7. VIII. 1963) sous des pierres, 5 ♂♂ homéomorphes et 6 ♀♀ (Besuchet, Scherler) (7. VIII. 1963) dans des mousses; sommet du Monte Generoso, à 1700 m d'altitude, 1 ♂ homéomorphe (Besuchet) (9. VI. 1962) et 1 ♀ (Scherler) (12. VII. 1961) dans des mousses.

Je dédie avec plaisir cette espèce à M. P. Scherler, de Vevey.

C'est à ce *Bryaxis* qu'appartient le mâle de Niederrickenbach (environs de Stans, canton d'Unterwald) décrit par JEANNEL sous le nom d'*allobrox* Croiss. On verra plus loin (p. 436) que le véritable *allobrox* est bien différent. Cet exemplaire unique de Niederrickenbach (coll. Sainte-Claire Deville, Muséum de Paris) est en tous points semblable, d'après les notes et croquis pris en 1959 lors d'un séjour à Paris, aux mâles du Tessin. Les recherches que j'ai entreprises à Niederrickenbach (1162 m d'altitude) et dans les régions montagneuses voisines sont restées sans résultat. Mais les récoltes du Generoso et du Camoghè montrent qu'il faut chercher *Bryaxis scherleri* non pas dans les mousses des alpages mais sous les pierres et dans les mousses des sommets.

C'est au groupe de *gallicus*, formé des espèces *gallicus* Reitt., *apuanus* Rasetti, *oreophilus* Meixner et *judicariensis* Dod. des Alpes françaises, italiennes et autrichiennes, qu'appartient l'espèce nouvelle décrite ici. *B. scherleri* diffère de *B. oreophilus*, des Alpes de Styrie, avec lequel il est étroitement apparenté, par la ponctuation des élytres plus légère, par le pédicelle des mâles plus allongé et par l'édéage.

***Bryaxis khnzoriani* n. sp.**

♂ Type: coll. mea. Loc. typ. Swanetie.

Long. 1,5 mm. Coloration entièrement d'un brun rougeâtre clair; pubescence formée de soies de longueur moyenne. Tête nettement plus large que longue, nettement moins large que le pronotum. Lobe frontal court, transverse, large de 0,16 mm, très légèrement ponctué en arrière des tubercules antennaires, orné d'une dépression médiane assez profonde. Vertex parcouru dans toute sa longueur par une carénule bien marquée. Yeux bien développés. Tempes arrondies. Articles 2 et 3 des palpes maxillaires ornés sur leur face ventrale de quelques granules; dernier article pas tout à fait trois fois plus long que large. Antennes de longueur moyenne; article 3 nettement plus long que large, 4 à peine plus large que long, 5 un peu plus large que long, 6, 7 et 8 nettement plus larges que longs, 9 et 10 transverses, 11 légèrement plus long que les quatre articles précédents réunis. Pronotum à peine plus large que long, la plus grande largeur (0,39 mm) située un peu en avant du milieu, nettement puis plus légèrement atténué jusqu'à la base, le disque non ponctué. Ponctuation des élytres très légère, indistincte.

Caractères sexuels du mâle. Yeux normalement développés, saillants. Scape (fig. 17) assez renflé, nettement plus long que large, un peu élargi de la base à l'apex, celui-ci orné sur son bord interne d'un petit tubercule saillant plus large que long. Pédicelle (fig. 17) bien moins large que le scape, un peu plus long que large, orné sur toute la longueur de son bord interne d'une carène très étroite. Elytres réunis légèrement plus larges que longs, la callosité humérale bien marquée. Fémurs I un peu renflés, plus robustes que les

fémurs II et III; tibias I avec une petite échancrure au quart apical; tibias III grêles, simples.

Edéage (fig. 18). Long. 0,23 mm. Capsule basale de taille normale. Styles bien développés, brusquement moins chitinisés à partir du quart postérieur de leur longueur, un peu atténués de la base à l'apex, celui-ci tronqué. Armature du sac interne formée de deux tiges longues et grêles.

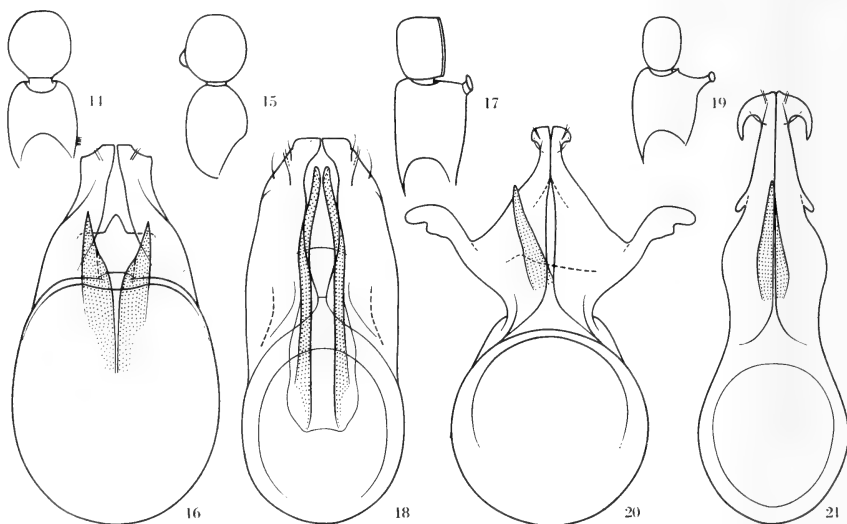


FIG. 14 à 21.

14. *Bryaxis scherleri* n. sp., du Camoghè, scape et pédicelle du mâle, face dorsale. — 15. *Id.*, face externe. — 16. *Id.*, édéage, face dorsale. — 17. *Bryaxis khnzoriani* n. sp., de Swanetie, scape et pédicelle du mâle, face dorsale. — 18. *Id.*, édéage, face dorsale. — 19. *Bryaxis festivus* n. sp., de Swanetie, scape et pédicelle du mâle. — 20. *Id.*, édéage, face dorsale. — 21. *Bryaxis appendiculatus* Reitt., de Swanetie, édéage, face dorsale.

U. R. S. S. Géorgie: Swanetie, 1 ♂ (Leder). La Swanetie est une région montagneuse du Caucase comprise entre le cours supérieur de l'Ingouri et du Tskhenis-Tskali. Je dois ces renseignements à M. S. M. Khnzorian, d'Erivan, à qui cette espèce est dédiée.

Ce *Bryaxis* nouveau, bien caractérisé par la ponctuation très effacée des élytres, par la forme des deux premiers articles antennaires et par la taille relativement faible de l'édéage, est apparenté, par la structure générale de ce dernier, à *B. swaneticus* Reitt.

**Bryaxis festivus** n. sp.

♂ Type: coll. mea. Loc. typ. Swanetie.

Long. 1,35 mm. Coloration entièrement d'un brun rougeâtre peu foncé; pubescence formée de soies de longueur moyenne. Tête nettement plus large que longue, nettement moins large que le pronotum. Lobe frontal court, transverse, large de 0,15 mm, légèrement ponctué en arrière des tubercules antennaires, orné d'une dépression médiane peu profonde. Vertex parcouru dans toute sa longueur par une carénule bien marquée. Yeux relativement peu développés. Tempes arrondies. Articles 2 et 3 des palpes maxillaires ornés sur leur face ventrale de quelques granules; dernier article deux fois et demie plus long que large. Antennes de longueur moyenne; article 3 nettement plus long que large, 4 et 5 légèrement plus larges que longs, 6, 7 et 8 nettement plus larges que longs, 9 et 10 transverses, 11 un peu moins long que les cinq articles précédents réunis. Pronotum un peu plus large que long, la plus grande largeur (0,36 mm) située entre le tiers antérieur et le milieu, nettement et régulièrement atténué jusqu'à la base, le disque non ponctué. Ponctuation des élytres bien marquée, irrégulière.

Caractères sexuels du mâle. Yeux formés chacun d'une quinzaine d'ommatidies. Scape (fig. 19) assez renflé, un peu plus long que large, un peu élargi de la base à l'apex, celui-ci orné sur son bord interne d'un tubercule très saillant, grêle, bien plus long que large. Pédicelle (fig. 19) bien moins large que le scape, assez nettement plus long que large, simple. Elytres réunis légèrement plus larges que longs, la callosité humérale peu marquée. Fémurs non renflés; tibias I avec une échancrure très petite au tiers apical; tibias III robustes dans la moitié basale, grêles dans la moitié apicale, ornés au milieu, sur leur bord interne, d'une dent saillante.

Edéage (fig. 20). Long. 0,40 mm. Capsule basale bien développée. Styles de forme très particulière, la base étroite, la région médiane très large, prolongée latéralement par un appendice foliacé, l'apex étroit, terminé par une petite palette. Armature du sac interne formée d'une seule épine robuste.

U. R. S. S. Géorgie: Swanetie, 1 ♂ (Leder).

Cette espèce diffère extérieurement de *Bryaxis appendiculatus* Reitt., avec lequel elle est restée confondue jusqu'à ce jour, par la

taille un peu plus petite et par la ponctuation de la tête plus réduite. Les édéages sont à première vue totalement différents, celui d'*appendiculatus* (fig. 21; long. 0,53 mm) étant bien caractérisé par l'allongement remarquable des styles; mais ils présentent cependant l'un et l'autre une seule épine robuste dans le sac interne.

***Tribatus lopatini* n. sp.**

♀ Type: Erivan. Loc. typ. Takob.

Long. 2,2 mm. Coloration entièrement d'un brun rougeâtre peu foncé; pubescence formée de soies de longueur moyenne. Tête un peu plus large que longue, aussi large que le pronotum, non ponctuée, ornée entre les yeux de deux petites fossettes profondes, tomenteuses. Lobe frontal très large, transverse, orné d'une dépression qui va en s'approfondissant et en se rétrécissant d'arrière en avant. Tempes nettement plus longues que les yeux, ceux-ci bien développés, saillants. Palpes maxillaires robustes; article 3 à peine moins large que l'article 4; celui-ci trois fois plus long que large, la plus grande largeur située entre le tiers antérieur et le milieu, nettement et régulièrement atténué jusqu'à l'apex. Antennes assez longues; scape et pédicelle une fois et demie plus longs que larges; articles 3, 4 et 5 deux fois plus longs que larges, 6 une fois et demie plus long que large, 7 nettement plus long que large, 9 un peu plus large que les articles précédents, un peu plus long que large, 10 bien plus large, aussi long que large, 11 encore un peu plus large, une fois et demie plus long que large, à peine plus long que les deux articles précédents réunis. Pronotum à peine plus large que long, non ponctué, la plus grande largeur située entre le tiers antérieur et le milieu, nettement atténué en arrière mais subparallèle près des angles postérieurs; fossette médiane bien développée, profonde, non tomenteuse; fossettes latérales plus grandes, profondes, tomenteuses. Elytres réunis nettement plus larges que longs, relativement courts, légèrement ponctués; deux petites fossettes basales sur chaque élytre; strie suturale entière; strie dorsale marquée jusqu'au tiers postérieur, nettement dirigée vers la suture; callosité humérale à peine marquée. Abdomen légèrement plus long que les élytres; premier tergite relativement peu développé, un peu plus de deux fois plus large que long, nettement élargi d'avant en arrière, orné



de deux carénules très courtes séparées par un espace égal au tiers de la largeur basale de ce tergite.

Mâle inconnu.

U. R. S. S. Tadjikistan: Takob près de Stalinabad, 1 ♀ (Lopatin) sous une pierre, dans un nid de *Camponotus fedtschenkoi* Mayr.

Cet exemplaire, aimablement communiqué par M. S. M. Khnzorian, est déposé dans les collections de l'Institut zoologique de l'Académie des Sciences de l'Arménie soviétique à Erivan. L'espèce décrite ici est dédiée à M. I. Lopatin, de Stalinabad.

Le genre *Tribatus* compte désormais quatre espèces, qui peuvent être séparées de la façon suivante:

1. Disque du pronotum assez nettement ponctué; strie dorsale de l'élytre parallèle à la strie suturale; antennes plus courtes, les articles 4 et 6 à peine plus larges que longs, 5 légèrement plus long que large, 7, 8 et 9 nettement plus larges que longs. Mâle inconnu. Long. 2,0 mm. Crête . . . . . *creticus* Reitt.
- Disque du pronotum lisse, brillant; strie dorsale de l'élytre nettement dirigée, dans sa partie postérieure, vers la strie suturale; antennes plus longues, les articles 4, 5 et 6 toujours plus longs que larges, 7 aussi long ou plus long que large . . . . . 2
2. Tempes nettement plus longues que les yeux; la plus grande largeur du dernier article des palpes maxillaires située entre le tiers antérieur et le milieu; premier tergite de l'abdomen peu développé, un peu plus de deux fois plus large que long. Mâle inconnu. Long. 2,2 mm. Tadjikistan . . . . . *lopatini* n. sp.
- Tempes légèrement moins longues que les yeux; la plus grande largeur du dernier article des palpes maxillaires située à la base; premier tergite de l'abdomen bien développé, moins de deux fois plus large que long . . . . . 3
3. Elytres réunis nettement plus larges que longs, légèrement moins longs que l'abdomen; dernier article des palpes maxillaires un peu plus de trois fois plus long que large; antennes plus allongées, l'article 5 légèrement plus de deux fois plus long que large. Caractères sexuels du mâle: disque du métasternum un peu surélevé, orné dans sa partie postérieure, sur un peu plus de la moitié de sa longueur, d'une dépression légère portant une pubescence serrée, formée de soies couchées assez longues. Long. 1,8 à 1,9 mm. Tadjikistan . . . . . *hauseri* Bes.
- Elytres réunis un peu plus larges que longs, nettement plus longs que l'abdomen; dernier article des palpes maxillaires quatre fois plus long que large; antennes moins allongées, l'article 5 une fois et demie à une fois et deux tiers plus long que

large. Caractères sexuels du mâle: partie postérieure médiane du premier tergite un peu surélevée, assez nettement échancrée au milieu de son bord postérieur; deuxième tergite perpendiculaire au premier, orné d'une grande fossette glabre, profonde, qui s'étend du bord antérieur au bord postérieur du tergite. Long. 1,7 à 1,8 mm. Caucase . . . . . *thoracicus* Motsch.

### ***Tychus judaeus* n. sp.**

♂ Type: coll. mea. Loc. typ. Jérusalem.

Long. 1,4 mm. Coloration d'un brun rougeâtre foncé, le disque des élytres nettement plus clair; pubescence formée de soies assez longues et de quelques grandes soies. Tête légèrement plus large que longue, nettement moins large que le pronotum. Lobe frontal étroit (0,14 mm dans sa partie la plus large), saillant. Vertex légèrement aplati sur son disque. Yeux bien développés, saillants, plus longs que les tempes. Palpes maxillaires normalement développés. Antennes de longueur moyenne; scape une fois et demie plus long que large; pédicelle un peu plus long que large; article 6 un peu plus large que long, 7 à peine plus long que large, 8 nettement plus large que long, 9 bien plus large que les articles du funicule, aussi long que large, 10 encore plus large, nettement plus large que long, 11 un peu plus long que les deux articles précédents réunis. Pronotum un peu plus large que long, la plus grande largeur située au milieu, nettement atténué en arrière. Elytres réunis nettement plus larges que longs; callosité humérale saillante; strie dorsale profonde, marquée jusqu'au milieu de l'élytre. Premier tergite abdominal court (0,16 mm).

Caractères sexuels du mâle. Articles 3, 4 et 5 des antennes nettement renflés, un peu plus longs que larges, 4 légèrement plus large que les articles 3 et 5. Trochanters II armés sur leur bord postérieur d'une épine robuste assez longue, égale à la largeur du trochanter, légèrement arquée. Métasternum orné dans sa partie postérieure d'une dépression peu profonde. Deuxième et troisième sternites abdominaux portant chacun deux petites touffes de soies perpendiculaires aux téguments, assez rapprochées l'une de l'autre.

Edéage (fig. 22). Long. 0,30 mm. Style gauche bien développé, régulièrement atténué de la base à l'apex, assez brusquement coudé dans sa partie basale et dans sa partie apicale, orné sur son bord

interne d'une petite dent. Tubulure distale plutôt grêle, atténuée en pointe à son extrémité, ornée dans sa partie basale d'une petite apophyse dorsale falciforme.

Israël: Jérusalem, 1 ♂ (Madon).

Cette espèce, bien caractérisée par son édéage, prend place près de *Tychus dalmatinus* Reitt.

### ***Tychus anatolicus* n. sp.**

♂ Type: coll. mea. Loc. typ. Goek-Dagh.

Long. 1,5 mm. Coloration d'un brun rougeâtre foncé, le disque des élytres nettement plus clair; pubescence formée de soies assez longues et de quelques grandes soies. Tête aussi longue que large, nettement moins large que le pronotum. Lobe frontal étroit (0,15 mm dans sa partie la plus large), saillant. Vertex orné sur son disque d'une dépression allongée très superficielle. Yeux bien développés, saillants, plus longs que les tempes. Palpes maxillaires normalement développés. Antennes de longueur moyenne; scape presque une fois et demie plus long que large; pédicelle à peine plus long que large; articles 6, 7 et 8 nettement plus larges que longs, 9 bien plus large que les articles du funicule, un peu plus large que long, 10 encore plus large, nettement plus large que long, 11 à peine plus long que les deux articles précédents réunis. Pronotum un peu plus large que long, la plus grande largeur située au milieu, nettement atténué en arrière. Elytres réunis nettement plus larges que longs; callosité humérale saillante; strie dorsale profonde, marquée jusqu'au milieu de l'élytre. Premier tergite abdominal court (0,17 mm).

Caractères sexuels du mâle. Articles 3, 4 et 5 des antennes nettement renflés, 3 légèrement plus long que large, 4 et 5 légèrement plus larges que longs, égaux. Trochanters II armés sur leur bord postérieur d'une épine aiguë de longueur moyenne. Métasternum orné dans sa partie postérieure d'une dépression peu profonde. Premier et deuxième sternites abdominaux portant chacun une petite touffe de soies presque perpendiculaires aux téguments.

Édéage (fig. 23). Long. 0,35 mm. Style gauche bien développé, régulièrement atténué de la base à l'apex, grêle, un peu arqué, orné au tiers postérieur de deux petites dents. Tubulure distale

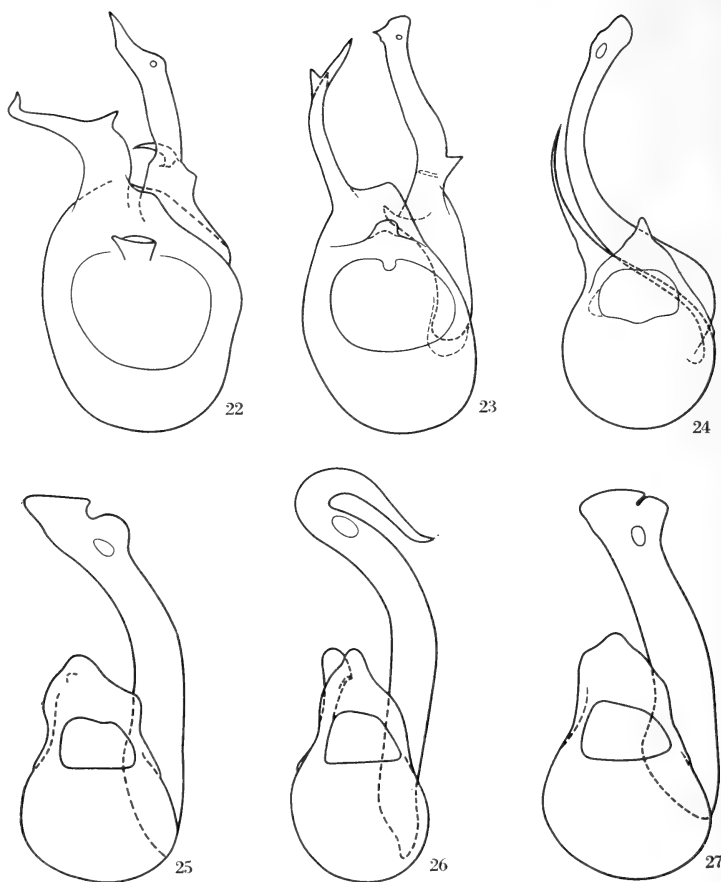


FIG. 22 à 27.

22. *Tychus judaeus* n. sp., de Jérusalem, édéage, face ventrale. — 23. *Tychus anatolicus* n. sp., de Goek-Dagh, édéage, face ventrale. — 24. *Tychus epiroticus* n. sp., de Nisista, édéage, face ventrale. — 25. *Tychus sardous* n. sp., d'Ozieri, édéage, face ventrale. — 26. *Tychus rufopictus* Reitt., d'Ozieri, édéage, face ventrale. — 27. *Tychus asuniensis* n. sp., d'Asuni, édéage, face ventrale.

un peu élargie à son extrémité, ornée dans sa partie basale d'une petite apophyse dorsale falciforme, d'une petite épine dorsale très grêle et d'une dent latérale.

Turquie. Anatolie: Goek-Dagh, 1 ♂ (von Bodemeyer).

Cette espèce est apparentée aux *Tychus monilicornis* Reitt. et *creticus* Reitt.

***Tychus epiroticus* n. sp.**

♂ Type: Vienne. Loc. typ. Nisista. Paratypes: Vienne et coll. mea.

Long. 1,35 à 1,45 mm. Coloration d'un brun rougeâtre foncé; pubescence formée de soies assez longues et de quelques grandes soies. Tête à peine plus longue que large, nettement moins large que le pronotum. Lobe frontal de largeur moyenne (0,17 à 0,18 mm dans sa partie la plus large), saillant. Vertex légèrement et régulièrement convexe sur son disque. Yeux bien développés, saillants, à peine plus longs que les tempes. Palpes maxillaires normalement développés. Antennes de longueur moyenne; scape une fois et demie plus long que large; pédicelle nettement plus long que large; articles 3 et 5 nettement plus longs que larges, 4 légèrement plus long que large, 6 légèrement ou un peu plus large que long, 7 aussi large ou légèrement plus large que long, 8 transverse, 9 bien plus large que les articles du funicule, un peu plus large que long, 10 encore plus large, nettement plus large que long, 11 un peu plus long que les deux articles précédents réunis. Pronotum un peu plus large que long, la plus grande largeur située au milieu, nettement atténué en arrière. Elytres réunis nettement plus larges que longs; callosité humérale plus ou moins saillante; strie dorsale profonde, dépassant légèrement le milieu de l'élytre. Premier tergite abdominal de longueur moyenne (0,18 mm).

Caractères sexuels du mâle. Articles du funicule antennaire simples, non renflés. Trochanters II armés sur leur bord postérieur d'une petite épine aiguë. Métasternum orné dans sa partie postérieure d'une dépression peu profonde.

Edéage (fig. 24). Long. 0,31 à 0,32 mm. Style gauche peu développé, très grêle, atténué de la base à l'apex en pointe aiguë, légèrement arqué. Tubulure distale grande, relativement grêle, nettement arquée, légèrement dilatée dans sa partie apicale.

Grèce. Epire: Nisista, dans la chaîne du Xerovuni, 4 ♂♂ (Beier) entre 700 et 800 m d'altitude en compagnie des *Tychus rufus* Motsch. et *pullus* Kiesw.

Cette espèce est nettement apparentée, par son édéage, à *Tychus angulifer* Reitt.

***Tychus sardous* n. sp.**

♂ Type: coll. mea. Loc. typ. Ozieri. Paratype: Museum Frey.

Long. 1,35 à 1,4 mm. Coloration d'un brun rougeâtre foncé, les élytres nettement plus clairs; pubescence formée de soies de longueur moyenne et de quelques grandes soies. Tête aussi longue que large, un peu moins large que le pronotum. Lobe frontal étroit (0,15 mm dans sa partie la plus large), saillant. Vertex orné sur son disque d'une dépression allongée très superficielle. Yeux bien développés, saillants, à peine plus longs que les tempes. Palpes maxillaires normalement développés. Antennes de longueur moyenne; scape une fois et deux tiers plus long que large; pédicelle nettement plus long que large; articles 3, 4 et 7 nettement plus longs que larges, 5 une fois et demie plus long que large, 6 un peu plus long que large, 8 nettement plus large que long, 9 bien plus large que les articles du funicule, légèrement plus large que long, 10 encore plus large, nettement plus large que long, 11 un peu plus long que les deux articles précédents réunis. Pronotum à peine plus large que long, la plus grande largeur située au milieu, nettement atténué en arrière. Elytres réunis nettement plus larges que longs; callosité humérale saillante; strie dorsale profonde, dépassant légèrement le milieu de l'élytre. Premier tergite abdominal court (0,14 mm).

Caractères sexuels du mâle. Articles du funicule antennaire simples, non renflés. Bord postérieur des trochanters II nettement anguleux. Méta sternum orné dans sa partie postérieure d'une dépression peu profonde.

Édéage (fig. 25). Long. 0,25 mm. Style gauche complètement atrophié. Tubulure distale assez robuste, légèrement arquée, un peu élargie dans sa partie apicale, celle-ci étranglée sur son bord externe par une échancrure profonde.

Italie. Sardaigne: 1 ♂ (Lostia) sans indication plus précise; Ozieri, 1 ♂ (Dodero).

Cette espèce diffère de *Tychus rufopictus* Reitt., avec lequel elle est étroitement apparentée, par les articles antennaires 5, 6 et 7 plus allongés et par l'édéage. Celui-ci présente chez *rufopictus* (fig. 26; long. 0,29 mm) une tubulure distale dont la partie apicale est brusquement recourbée et régulièrement atténuée en pointe.

***Tychus asuniensis* n. sp.**

*Tychus asuniensis* Reitter i. l.

♂ Type: coll. Binaghi. Loc. typ. Asuni. Paratypes: Budapest, coll. Binaghi et coll. mea.

Long. 1,4 à 1,5 mm. Diffère de *sardous* par le lobe frontal légèrement plus large (0,16 mm), par la dépression du vertex plus profonde, par le pronotum un peu plus large que long, par la callosité humérale des élytres effacée, par le premier tergite abdominal un peu plus long (0,16 à 0,17 mm), par les trochanters II du mâle armés sur leur bord postérieur d'une petite dent aiguë et par l'édéage. Celui-ci (fig. 27; long. 0,26 à 0,27 mm) présente une tubulure distale robuste, très légèrement arquée, nettement élargie à l'apex, ce dernier orné d'une petite fente étroite.

I t a l i e . Sardaigne: Asuni, 5 ♂♂ 4 ♀♀ (Krausse).

Les *Tychus sardous* et *asuniensis* sont restés confondus jusqu'à ce jour avec l'espèce *rufopictus* Reitt. C'est d'ailleurs sous le nom de *rufopictus* que JEANNEL (1950: 338, fig. 141 d) a figuré l'édéage de *sardous*.

***Pselaphogenius neapolitanus* n. sp.**

♂ Type: Museum Frey. Loc. typ. Mte S. Angelo. Paratypes: Museum Frey, coll. Binaghi et coll. mea.

Long. 1,85 à 2,05 mm. Diffère de *P. aspromontanus* Reitt. par les téguments du disque et de la base du pronotum généralement nettement chagrinés, par les fossettes latérales du pronotum bien plus profondes, par le dernier tergite abdominal de la femelle non relevé à son extrémité en pointe saillante, par le métasternum du mâle orné d'une saillie conique peu élevée dont le sommet est situé légèrement en arrière du milieu du métasternum (cette saillie conique nettement plus élevée chez *aspromontanus*, son sommet situé légèrement en avant du milieu du métasternum), enfin par l'édéage plus court, plus ramassé dans toutes ses parties. Cet organe (fig. 28 et 29; long. 0,40 à 0,41 mm) diffère en outre de celui d'*aspromontanus* (fig. 30 et 31; long. 0,45 à 0,47 mm) par la forme des styles et des apophyses latérales insérées près de la capsule basale.

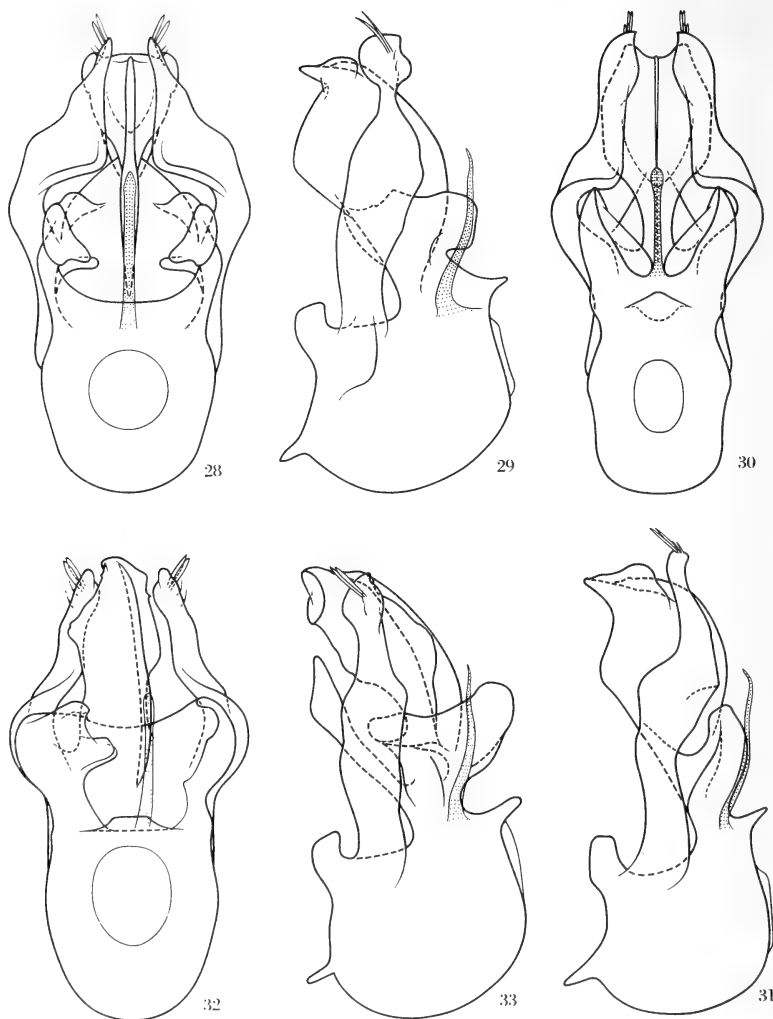


FIG. 28 à 33.

28. *Pselaphogenius neapolitanus* n. sp., du Mte S. Angelo, édéage, face dorsale. — 29. *Id.*, face latérale. — 30. *Pselaphogenius aspromontanus* Reitt., de Sta. Eufemia d'Aspromonte, édéage, face dorsale. — 31. *Id.*, face latérale. — 32. *Pselaphogenius lucanicus* n. sp., de Latronico, édéage, face dorsale. — 33. *Id.*, face latérale.

Italie. Campanie: Mte S. Angelo, 3 ♂♂ 3 ♀♀ (Paganetti); S. Biase près de Vallo della Lucania, 1 ♂ 2 ♀♀ (Solari); Laurito près de Vallo della Lucania, 2 ♂♂ (Solari).



Les *Pselaphogenius neapolitanus* et *aspromontanus*, confondus jusqu'à ce jour, sont étroitement apparentés. Le second est localisé dans l'extrémité méridionale de la Calabre; je le connais de Sta. Eufemia d'Aspromonte (Paganetti) (types) et de Serra S. Bruno (Fiori).

***Pselaphogenius lucanicus* n. sp.**

♂ Type: coll. Binaghi. Loc. typ. Latronico. Paratype: coll. mea.

Long. 1,95 mm. Diffère de *P. aspromontanus* Reitt. par les téguments du pronotum légèrement alutacés, par les fossettes latérales du pronotum bien plus profondes, par la carène humérale des élytres un peu mieux marquée, par le dernier tergite abdominal de la femelle non relevé à son extrémité en pointe saillante, par le métasternum du mâle orné d'une saillie conique peu élevée dont le sommet est situé au milieu du métasternum, enfin par l'édéage. Celui-ci (fig. 32 et 33; long. 0,42 mm) est bien caractérisé par l'assymétrie de toute la partie située dans le prolongement de la capsule basale, par la présence d'une lame ventrale bien développée, presque symétrique, légèrement inclinée à gauche, enfin par la forme des styles.

Italie. Lucanie: Latronico, 1 ♂ 1 ♀ (Andreini). C'est vraisemblablement à cette espèce qu'appartiennent les 2 ♀♀ de Lagonegro en Lucanie (Andreini) de la collection Doderò.

*Pselaphogenius lucanicus* ressemble étrangement, par sa morphologie générale et ses caractères sexuels, à *neapolitanus*; mais il diffère cependant de toutes les espèces du groupe de *fiorii* (*fiorii* Raffr., *conosternum* Holdh., *peloritanus* Holdh., *calabrus* Reitt., *aspromontanus* Reitt. et *neapolitanus* m.), auquel il appartient incontestablement, par la présence d'une lame ventrale à l'édéage et par l'assymétrie partielle de celui-ci.

***Euplectus bescidicus* Reitt. et *bohemicus* Mach.**

Les *Euplectus bescidicus* REITTER (1881: 524. ! ♂ Type: Paris. Loc. typ. Moravie) et *bohemicus* MACHULKA (1930: 45. Nom. nov. pro *bescidicus* RAFFRAY, 1910: 207, pl. 5, fig. 20, nec REITTER) ne forment qu'une seule et même espèce. Les différences relevées par

MACHULKA ne sont pas dues à la présence de deux espèces distinctes mais à la précision plus ou moins grande des descriptions. REITTER et RAFFRAY ont en effet étudié les mêmes exemplaires et ceux-ci (1 ♂ de « Moravie » et 4 ♂♂ d'« Europe orientale »), conservés dans la collection Raffray, sont rigoureusement identiques.

Machulka ne devait pas très bien savoir quel était le véritable *Euplectus bescidicus* Reitt. puisqu'il a identifié sous ce nom, à des époques différentes, des exemplaires appartenant aux espèces *infirmus* Raffr., *decipiens* Raffr., *sparsus* m. et *bescidicus* Reitt.! C'est à cette dernière qu'appartiennent également les *Euplectus bohemicus* déterminés par Machulka.

*Euplectus bescidicus* Reitt. est largement répandu tout en étant fort rare. Seuls les mâles dont j'ai pu étudier l'édéage, pour éviter toute erreur d'identification, figurent dans la liste donnée ici.

Grande-Bretagne. Chester: Arden Hall, 2 ♂♂ (Potter et Britten). — France. Côte-d'Or: Esbarres, 1 ♂ (Barbier). — Suisse. Vaud: Allaman, 1 ♂ (Besuchet). — Allemagne. Schleswig-Holstein: Deutsch-Nienhof, 2 ♂♂ (Weber). — Autriche. Tyrol: Kufstein, 1 ♂ (Pechlaner). Basse-Autriche: Kaltenleutgeben près de Vienne, 1 ♂. Burgenland: Leitha Gebirge près de Winden, 1 ♂ (Besuchet). — Tchécoslovaquie. Moravie, sans indication plus précise, 1 ♂ (Reitter); Uhersky Brod, 1 ♂ (von Wanka); Tešín, 2 ♂♂ (von Wanka). Slovaquie: Oružín, 1 ♂ (Machulka); Tahanovce, 1 ♂ (Machulka); Kosičie, 1 ♂ (Machulka). — Yougoslavie. Slovénie: Pohorje = Bacher Gebirge, 1 ♂ (Diener). — Roumanie. Banat: Mont Sarco, 1 ♂ (Breit). Valachie: Azuga, 1 ♂.

### **Bryaxis allobrox** Croiss.

Le type unique de *B. allobrox* CROISSANDEAU (1891: 139. ! ♂ Type: coll. Pic, Paris. Loc. typ. Annecy) est en trop mauvais état de conservation pour qu'il soit possible d'extraire et d'étudier son édéage. La conformation des antennes, en particulier la dépression basale de la face interne du scape et la saillie basale de la face ventrale du pédicelle, le lobe frontal relativement étroit (0,13 mm), la faible largeur du pronotum (0,32 mm) et les tibias I à peine échancrés permettent cependant facilement de l'identifier à *Bryaxis pyrenaeus* Sauley.

Les *Bryaxis pyrenaeus* Saulcy = *allobrox* Croiss. et *scherleri* m. = *allobrox* Jeann. (cf. p. 421) ne sont nullement apparentés malgré quelques ressemblances, superficielles d'ailleurs.

***Bryaxis collaris* Baudi, *germanus* Reitt. et *foemineus* Fiori**

*B. germanus* serait, d'après MACHULKA (in HORION, 1949: 299), une sous-espèce ou une variété de *B. collaris* et non pas un synonyme. Tous les exemplaires que j'ai étudiés sont identiques, qu'ils appartiennent à la faune allemande, suisse, française ou italienne. D'autre part le seul exemplaire connu de la forme mâle *foemineus* de *B. collaris* est en réalité une femelle de cette même espèce !

En résumé, *Bryaxis collaris* BAUDI (1859: 341. ♂ Type ? Loc. typ. Alpes-Maritimes) = *manueli* SHARP (1874: 82. ! ♂ Type: Londres. Loc. typ. Albertville) = *germanus* REITTER (1882: 84. ♂ Type: Paris. Loc. typ. Stuttgart) = *foemineus* FIORI (1904: 237. ! ♀ Type: Univ. Humboldt Berlin. Loc. typ. Vallombrosa).

***Bryaxis picteti* Tourn., *atavicus* Fiori et *meridionalis* Mach.**

Chez *Bryaxis picteti* TOURNIER (1859: XCVIII. ! ♂ Type: Paris. Loc. typ. Peney près de Genève), les tibias I des mâles présentent sur leur bord interne, au quart apical, une petite échancrure bien marquée. Celle-ci ferait défaut chez l'aberration *atavicus* FIORI (1905 a: 12. ! ♂ Type: Univ. Humboldt Berlin. Loc. typ. Nava); les trois mâles de la collection Fiori classés sous ce nom présentent en réalité tous trois la petite échancrure en question.

J'ai déjà montré (1955: 274) que *Bryaxis incertulus* MACHULKA (1932: 129. ♂ Type: Prague. Loc. typ. Bolzano) tombe dans la synonymie de *picteti* mais que sa sous-espèce *meridionalis* MACHULKA (1932: 130. ♂ Type: Prague. Loc. typ. Aspromonte) mérite d'être conservée. Tel n'est pas l'avis de MEGGIOLARO (1960 a: 81). Les mâles de Calabre diffèrent pourtant nettement de ceux des environs de Genève:

*B. picteti picteti* Tourn.

*B. picteti meridionalis* Mach.

Taille plus petite, plus grêle.  
Longueur totale : 1,45 à  
1,25 mm. Largeur du lobe fron-

Taille plus grande, plus robuste. Longueur totale: 1,25 à  
1,35 mm. Largeur du lobe fron-

tal: 0,13 à 0,14 mm. Largeur de la tête: 0,26 à 0,28 mm. Largeur du pronotum: 0,29 à 0,32 mm.

Scape très renflé, aussi long ou légèrement plus long que large, le tubercule de la face interne peu saillant.

Pédicelle aussi long ou à peine plus long que large, presque sphérique.

Longueur de l'édéage: 0,21 à 0,22 mm.

tal: 0,14 à 0,15 mm. Largeur de la tête: 0,29 à 0,30 mm. Largeur du pronotum: 0,32 à 0,34 mm.

Scape moins renflé, un peu ou nettement plus long que large, le tubercule de la face interne assez saillant.

Pédicelle un peu ou nettement plus long que large, ovulaire.

Longueur de l'édéage: 0,23 à 0,24 mm.

Les mâles des régions intermédiaires sont moins franchement caractérisés; mais il est cependant possible de les identifier en se basant sur la forme du scape et du pédicelle. D'après le matériel que j'ai pu réunir, il semble que tous les exemplaires des Alpes françaises et italiennes appartiennent à *B. picteti picteti* Tourn. (= *marthae* Reitt. = *alpinus* Rey = *atavicus* Fiori = *incertulus* Mach.) et que tous les exemplaires des Apennins, et non pas seulement ceux de Calabre, appartiennent à *B. picteti meridionalis* Mach. (= *meridionalis* ab. *punctatus* Mach.).

***Bryaxis porsenna* f. *heteromorphus* Fiori et *mimus* f. *ticinensis* Bes.**

J'ai déjà montré (1958: 894) l'identité des *Bryaxis porsenna* Reitt. et *mimus* Dod. Les mâles homéomorphes *heteromorphus* Fiori (1900: 97. ! ♂ Type: Univ. Humboldt Berlin. Loc. typ. Paderno près de Bologne) et *ticinensis* BESUCHET (1954: 436. ! ♂ Type: coll. mea. Loc. typ. Mte Generoso) sont également rigoureusement semblables. L'espèce *porsenna* et sa forme *heteromorphus* sont assez largement répandues dans la péninsule italienne, du Tessin méridional et des environs de Gênes jusqu'à Naples.

***Trissemus niloticus* Motsch., *aegyptiacus* Motsch., *fulviventris* Sauley et *halfensis* Megg.**

Les *Trissemus niloticus* MOTSCHOULSKY (1851: 492. Type: Moscou. Loc. typ. Egypte) et *aegyptiacus* MOTSCHOULSKY (1851:

492. Type: Moscou. Loc. typ. Egypte), synonymes pour REITTER (1881: 475), RAFFRAY (1911: 96) et JEANNEL (1956: 119), appartiennent en réalité à deux espèces bien distinctes. Les diagnoses originales sont certes assez sommaires mais les données concernant la taille de ces deux espèces permettent de les séparer très facilement.

J'ai trouvé dans la collection Clemens Müller (Zoologische Sammlung des Bayerischen Staates à Munich) une petite série de *Trissemus niloticus* et *aegyptiacus* d'Egypte correctement identifiés par rapport aux descriptions originales et identiques aux exemplaires de même nom de la collection Victor de Motschoulsky (Musée zoologique de l'Université de Moscou) dont j'ai pu obtenir quelques renseignements très précis grâce à l'obligeance du Professeur M. S. Ghilarov. Il résulte de l'étude de ces exemplaires que DE SAULCY (1876: 88), puis REITTER (1881: 475) et JEANNEL (1956: 118, 119) décrivent sous le nom de *niloticus* l'espèce *aegyptiacus* Motsch. et que les *Trissemus fulviventris* SAULCY (1876: 89. ! ♂ Type: Londres. Loc. typ. Maroc ?), que j'ai moi-même redécrit (1962: 361) et *halfensis* MEGGIOLARO (1960 b: 341. ! ♂ Type: Milan. Loc. typ. W. Halfa) ne diffèrent en rien de l'espèce *niloticus* Motsch.

En résumé, *Trissemus niloticus* Motsch. = *fulviventris* Sauley = *halfensis* Megg. et *Trissemus aegyptiacus* Motsch. = *niloticus* auct.

Les différences séparant ces deux espèces sont présentées dans le tableau ci-dessous.

*T. niloticus* Motsch.

Long. 1,55 à 1,8 mm.

Article 7 des antennes à peine plus long que large, 8, 9 et 10 transverses chez le ♂, très nettement plus larges que longs chez la ♀, 11 plus grand et un peu aplati sur la base de son bord interne chez le ♂, un peu plus long que les quatre articles précédents réunis, normalement développé chez la ♀, presque aussi long que les quatre articles précédents réunis.

*T. aegyptiacus* Motsch.

Long. 1,3 à 1,4 mm.

Article 7 des antennes un peu plus long que large, 8 légèrement plus large que long, 9 aussi long que large, 10 un peu plus large que long, 11 aussi long que les trois articles précédents réunis.

Elytres réunis nettement plus larges que longs.

Premier tergite subparallèle ou légèrement atténué d'avant en arrière, ses carénules ne dépassant pas le tiers antérieur de sa longueur, séparées à la base par un espace égal approximativement au tiers de la largeur basale de ce tergite.

Bord postérieur des trochanters II orné chez le ♂ d'une petite épine grêle.

Edéage (fig. 34): long. 0,40 à 0,43 mm.

Egypte, Nubie, Maroc.

Elytres réunis un peu plus larges que longs.

Premier tergite distinctement atténué d'avant en arrière, ses carénules atteignant presque le milieu de sa longueur, séparées à la base par un espace égal au septième ou au huitième de la largeur basale de ce tergite.

Bord postérieur des trochanters I orné chez le ♂ d'une dent très petite; trochanters II ornés chez le ♂, à la base de leur bord postérieur, d'une épine grêle assez grande.

Edéage (fig. 35): long. 0,32 à 0,33 mm.

Egypte.

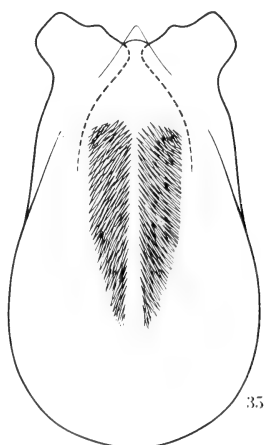
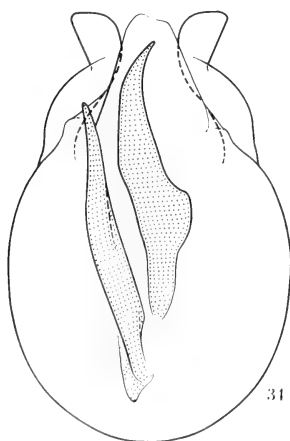


FIG. 34 et 35.

34. *Trissemus niloticus* Motsch., d'Egypte, édéage, face dorsale. — 35. *Trissemus aegyptiacus* Motsch., d'Egypte, édéage, face dorsale.

**Trissemus antennatus** Aubé, **serricornis** Schmidt, **caucasicus** Sauley  
et **balcanicus** Kar.

*Trissemus antennatus* présente, comme l'a montré KARAMAN (1960: 332, 339), deux races bien distinctes; celles-ci ne sont pas seulement caractérisées par l'armature du sac interne de l'édéage mais également par le développement plus ou moins grand des articles antennaires 10 et 11 des mâles. Or c'est précisément en raison de ces différences que DE SAULCY (1876: 94) a séparé sous le nom de *caucasicus* un mâle du Caucase.

Me référant d'une part aux descriptions originales et aux localités typiques de tous les noms proposés, connaissant d'autre part la répartition des deux races en question grâce à l'étude d'un matériel important, je peux établir que *T. antennatus antennatus* AUBÉ (1833: 31. ♂ Type: Paris. Loc. typ. environs de Paris) = *serratus* GREDLER (1863: 131. ♂ Type: Bolzano. Loc. typ. environs de Bolzano) et que *T. antennatus serricornis* SCHMIDT (1838: 5. ♂ Type: Prague. Loc. typ. Trébizonde) = *caucasicus* SAULCY (1876: 94. ♂ Type: Paris ? Loc. typ. Caucase) = *atricolor* REITTER (1905: 209. Type ? Loc. typ. Jablanica) = *balcanicus* KARAMAN (1960: 332, 339. Type non désigné). Les deux races de cette espèce doivent donc être nommées *antennatus* s. str. et *serricornis* Schmidt. Les différences qui les caractérisent sont présentées dans le tableau ci-dessous; elles n'intéressent que les mâles, les femelles étant identiques.

*T. antennatus*  
*antennatus* Aubé

Article 10 des antennes légèrement ou nettement plus long que large, un peu plus large que le dernier article, celui-ci deux fois plus long que large.

Armature du sac interne de l'édéage formée de trois épines robustes bien chitinisées.

*T. antennatus*  
*serricornis* Schmidt

Article 10 des antennes légèrement plus large ou aussi large que long, aussi large que le dernier article, celui-ci une fois et demie plus long que large.

Armature du sac interne de l'édéage formée de quatre épines robustes bien chitinisées.

Sud de l'Allemagne, Suisse,  
France, Corse, île d'Elbe, toute  
l'Italie.

Partie orientale de l'Au-  
triche, Hongrie, Yougoslavie,  
Albanie, Grèce, Turquie, Cau-  
case occidental.

### **Fagniezia impressa puncticollis Fiori**

FIORI (1905 b: 271) constate que le pronotum des *Reichenbachia impressa* de Bevagna en Ombrie est absolument lisse tandis que celui des exemplaires d'Emilie et de Vénétie est toujours plus ou moins ponctué; il juge nécessaire de créer pour ces derniers la variété *puncticollis* (! ♂ Type: Univ. Humboldt Berlin. Loc. typ. Galliera). Mais l'auteur confond sous le nom d'*impressa*, comme j'ai pu m'en rendre compte en étudiant sa collection, deux Psélaphides bien distincts, classés aujourd'hui dans deux genres différents, *Trissemus olivieri* Raffr. et *Fagniezia impressa* Panz. Par suite de cette erreur, *puncticollis* n'est qu'un synonyme d'*impressa*.

### INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- AUBÉ, C. 1833. *Pselaphiorum monographia*. Mag. Zool. Paris 3, 71 pp.
- BAUDI DI SELVE, F. 1859. *Bythinus collaris nov. spec.* Berl. Ent. Z. III: 341-342.
- BESUCHET, C. 1954. *Arcopagus mimus* Dod. *Description de la femelle et d'une variété nouvelle*. Mitt. schweiz. ent. Ges. 27: 435-436.
- 1955. *Arcopagus picteti* Tourn. et *krügeri* Mach. Ibid. 28: 274-278.
- 1958. *Coleoptera Pselaphidae et Scydmaenidae*. Rev. suisse Zool. Genève 65: 891-919.
- 1962. *Contribution à l'étude des Psélaphides du Maroc*. Mitt. schweiz. ent. Ges. 34: 333-371.
- BRENSKE, E. und REITTER, E. 1884. *Neuer Beitrag zur Käferfauna Griechenlands*. Deutsch. ent. Z. 28: 17-100.
- CROISSANDEAU, J. 1891. *Etude sur les Bythinus gallo-rhénans et corses et description de plusieurs espèces nouvelles*. Le Coléoptériste: 130-144.
- FIORI, A. 1900. *Dimorfismo maschile in alcune specie del Gen. Bythinus*. Atti Soc. Nat. Modena, Ser. IV, Vol. I: 97-100.
- 1904. *Ancora sui caratteri sessuali secondarii di alcuni Coleotteri*. Riv. Col. Ital. II: 233-254.
- 1905a. *Correzioni ed aggiunte al mio precedente articolo sui Bythinus*. Ibid. III: 11-12.



- FIORI, A. 1905b. *Sull'importanza della scultura, quale carattere diagnostico nella classificazione dei Bythinus ed altri Pselaphidi*. Nat. Siciliano 12, XVII: 269-272.
- GREDLER, V. M. 1863. *Die Käfer von Tirol*. Bozen, 491 pp.
- HORION, A. 1949. *Faunistik der mitteleuropäischen Käfer. II*. Frankfurt am Main, 388 pp.
- JEANNEL, R. 1950. *Coléoptères Psélaphides*. Faune Fr. 53, 421 pp.
- 1956. *Les Psélaphides de l'Afrique du Nord*. Mém. Mus. Hist. nat. Paris. Sér. A, 14, 233 pp.
- KARAMAN, Z. 1960. *Die Batrisinen und Brachyglutinen der Balkanhalbinsel*. Jb. land. forstw. Fak. Univ. Skopje 13: 317-343.
- MACHULKA, V. 1930. *Eine synonymische Studie über Euplectus bescidicus*. Ent. Nachrichtenblatt, Troppan IV: 44-45.
- 1932. *Eine Studie über den Bythinus Picteti Tournier*. Wien. ent. Ztg. 49: 126-130.
- MEGGIOLARO, G. 1960a. *Ricerche coleotterologiche sul litorale ionico della Puglia, Lucania e Calabria. IV. Coleoptera Pselaphidae*. Boll. Soc. ent. ital. 90: 80-94.
- 1960b. *Descrizione di due nuovi Pselaphidae del Sudan*. Atti Soc. ital. Milano 99: 339-343.
- MOTSCHOULSKY, V. DE. 1851. *Enumération de nouvelles espèces de Coléoptères*. Bull. Soc. Nat. Moscou 24, II: 479-511.
- RAFFRAY, A. 1910. *Revision des Euplectus paléarctiques*. Ann. Soc. ent. Fr. 79: 179-264.
- 1911. *Pselaphidae*. Coleopterorum Catalogus 27. Berlin, 222 pp.
- REITTER, E. 1881. *Bestimmungstabellen der europäischen Coleopteren. V. Paussidae, Clavigeridae, Pselaphidae und Scydmaenidae*. Verh. zool.-bot. Ges. Wien 31: 443-593.
- 1882. *Naturgeschichte der Insekten Deutschlands. Coleoptera III, 2, erste Lieferung*. Berlin, 198 pp.
- 1884. *Bestimmungstabellen der europäischen Coleopteren. X. Nachtrag zu dem V. Theile, enthaltend: Clavigeridae, Pselaphidae und Scydmaenidae*. Verh. zool.-bot. Ges. Wien 34: 59-94.
- 1905. *Über die paläarktischen Coleopteren-Arten der Gattung Reichenbachia s. str.* Deutsch. ent. Z.: 206-210.
- SAULCY, F. DE. 1876. *Species des Paussides, Clavigérides, Psélaphides et Scydménides de l'Europe et des pays circonvoisins*. Bull. Soc. Hist. nat. Metz (2) 14: 25-100.
- SCHMIDT, H. M. 1838. *Beytrag zu einer Monographie der Pselaphen, enthaltend neue Species aus Asien*. Prag, 16 pp.
- SHARP, D. 1874. *Descriptions of two new genera and some new species of Pselaphidae*. Ent. mon. Mag. London 11: 79-84.
- TOURNIER, H. 1859. *Bythinus Pictetii*. Bull. Soc. ent. Fr. (3) VII: XCVIII.
-



# Morphologische Studien über die embryonale und postembryonale Entwicklung bei Teleostiern mit besonderer Berücksichtigung des Dottersystems und der Leber

(Untersuchungen an *Pterophyllum scalare*,  
*Coregonus alpinus*, *Lebistes reticulatus* und  
*Perca fluviatilis*)

von

**Yvette KUNZ**

Zoologische Anstalt der Universität Basel

Mit 39 Textabbildungen.

## INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG . . . . .	446
II. MATERIAL UND TECHNIK . . . . .	449
III. ALLGEMEINER TEIL . . . . .	451
1) <i>Beobachtungsperiode</i> . . . . .	451
2) <i>Dottersack</i> . . . . .	453
3) <i>Dottersack-Kreislauf</i> . . . . .	454
4) <i>Leber</i> . . . . .	457
IV. SPEZIELLER TEIL . . . . .	
1) <i>Coregonus alpinus</i> (Felchen) . . . . .	459
2) <i>Pterophyllum scalare</i> (Segelflosser) . . . . .	464
3) <i>Lebistes reticulatus</i> (Guppy) . . . . .	470
4) <i>Perca fluviatilis</i> (Egli, Flussbarsch) . . . . .	477

## V. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

1) <i>Entwicklungszeit und allgemeine Entwicklungsabläufe</i> .	483
2) <i>Dottersack</i> . . . . .	487
3) <i>Dotterkreislauf</i> . . . . .	492
4) <i>Beziehung von Leber und Dottersack</i> . . . . .	496
a) <i>Leber</i> . . . . .	496
b) <i>Leber/Dottersack-Kontakt</i> . . . . .	498

VI. ZUSAMMENFASSUNG . . . . .	517
-------------------------------	-----

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN UND SIGNATUREN . . .	517
--	-----

LITERATURVERZEICHNIS . . . . .	522
--------------------------------	-----

## I. EINLEITUNG

Die Beziehungen von Darm und Dotter sind bei den Teleostiern in mancher Hinsicht abweichend von denen der übrigen Wirbeltiere. So wird schon frühembryonal das Dotter- vom Darmsystem gesondert und ist, im Gegensatz zu den übrigen meroblastischen Vertebraten-Keimen, nicht durch einen Dottergang mit ihm verbunden. Im Einzelnen zeigt diese Trennung verschiedene Varianten.

Bei den Salmoniden (*Salmo salar*, ZIEGLER (1882); Forelle, HENNEGUY (1888)) wurde beobachtet, dass des weiteren sich das Coelom, wenn es in den extraembryonalen Raum auszuwachsen beginnt, beidseitig zwischen Darm und Dottersack schiebt und verschmilzt. Der Dottersack wird also vom aufliegenden Darm — und somit auch von seinen später auftretenden Anhängen — durch eine doppelte Splanchnopleura-Zellage getrennt (Fig. 1).

Dem gegenüber beobachtete WILSON (1891), dass bei *Serranus atrarius*, einem Perciden, das Leberparenchym direkt dem Dottersyncytium aufliegt, dass hier also die trennenden Splanchnopleura-Schichten fehlen. Nach seinen Beschreibungen kommt dieser Kontakt — wir nennen ihn im folgenden den primären direkten Kontakt — dadurch zustande, dass bei dieser Species die Leber angelegt ist und dem Dotter aufliegt, bevor das Coelom die Dotterkugel zu umwachsen beginnt. Diese Befunde wurden von CHEVEY (1924) an einem weiteren Perciden, *Perca fluviatilis*, bestätigt (Fig. 1).

Beide Autoren gaben diesem direkten Leber-Dottersack-Kontakt eine physiologische Deutung und bezeichneten die Leber als ein

dotteraufnehmendes Organ. CHEVEY erhärtete seine Ansicht noch dadurch, dass er in Leber und Dottersack histologische Veränderungen beobachtete, die sich auf das Kontaktgebiet beschränkten.

1929 erschien eine Studie von PORTMANN und METZNER, welche die Verbindung von Leber und Dottersack bei vier weiteren Teleostiern behandelte. Es zeigte sich, dass bei allen diesen Gattungen die Leber im Anlagestadium vom Dottersack durch eine doppelte Splanchnopleura-Zelllage getrennt ist. Im Laufe der weiteren Entwicklung jedoch liessen sich im Kontaktgebiet zwei Varianten unterscheiden:

1) Bei *Salmo* und *Esox* reduzierten sich die beiden trennenden Splanchnopleura-Flächen auf eine Zellschicht, welche im weiteren Verlauf vollständig abgebaut wurde. Die Leber lag somit in einem fortgeschrittenen Dottersack-Stadium unmittelbar dem Dotter auf. Wir bezeichnen diese Situation, im Gegensatz zu den oben dargestellten Verhältnissen, als sekundären direkten Kontakt.

2) Bei den übrigen untersuchten Gattungen (*Cottus*, *Gobio*) konnte während der gesamten Dotterresorptions-Phase kein direkter Kontakt beobachtet werden.

Diese Kontraste gaben den Anlass zu vorliegender Arbeit. Es sollten nun an weiteren Teleostier-Arten aus anderen Familien die Verhältnisse im Leber-Dottersack-Kontaktgebiet abgeklärt werden, um die Basis für eine umfassendere vergleichende Übersicht zu schaffen.

Schon eine erste Orientierung ergab erhebliche artspezifische Unterschiede, sowohl was den Ablauf der Beziehungen zwischen Embryo bzw. Jungtier und Dottersack anbelangt — speziell auch zwischen Oel- und Eiweissanteil des Dotters —, als auch das Verhältnis von Dottersack und Leber. Des weiteren zeigte das Dottersack-Gefässsystem, das zum grossen Teil im Pfortader-Leber-Kreislauf eingeschaltet ist, auffallende Artverschiedenheiten.

Wir sahen uns deshalb genötigt, das Thema stark auszuweiten, um eine einwandfreie morphologische Darstellung der verschiedenen Entwicklungsabläufe geben zu können. Dem Dotterkreislauf (Blutzufuhr, Ausbildung des Gefässnetzes) wurde besondere Beachtung geschenkt, angeregt durch die Arbeiten von PORTMANN (1927) sowie PORTMANN und METZNER (1929), welche die Entwicklung des Kreislaufes bei verschiedenen Teleostiern eingehend

verfolgt und die bisherigen Resultate anderer Autoren zusammengefasst haben.

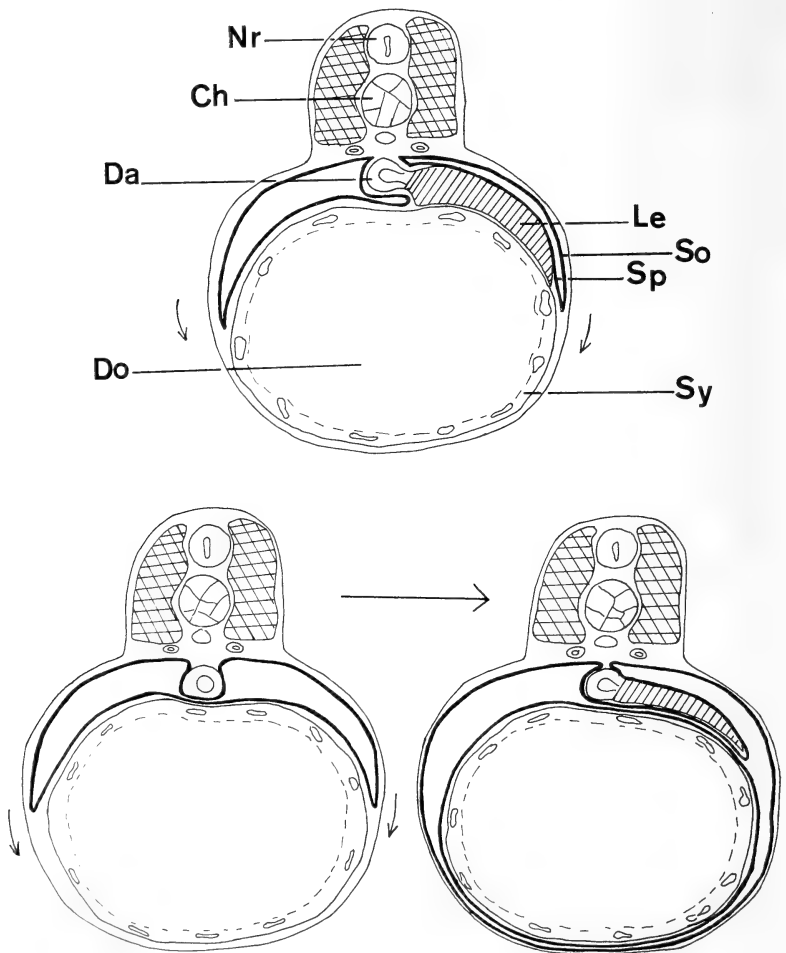


FIG. 1.

Schema der Splanchnopleura-Verhältnisse zur Zeit der Leberanlage (Querschnitte).

*oben*: Coelom wächst aus nach Anlage der Leber.

Resultat: im Kontaktgebiet keine Splanchnopleura (nach WILSON 1891 und CHEVEY 1924).

*unten*: Coelom wächst aus vor Anlage der Leber.

links: Ausgangssituation (nach ZIEGLER 1882 und HENNEGUY 1888).  
rechts: Resultat: Im Kontaktgebiet doppelte Splanchnopleura.

Zu Beginn der Untersuchungen hofften wir, auch umfassendere histochemische Prüfungen durchzuführen. Es zeigte sich aber bald, dass eine gründliche morphologische Darstellung der Artunterschiede vorausgehen müsse, und dass erst damit die Voraussetzung für die histochemische Untersuchung geschaffen wird.

Mein herzlichster Dank gilt meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. A. Portmann, für seine umsichtige Leitung und seine wertvollen Anregungen.

Für die bereitwillige Mithilfe bei der Materialbeschaffung und die praktischen Ratschläge danke ich besonders den Herren der Kant. Fischbrutanstalt Faulensee (Kt. Bern), vor allem Herrn H. Fahrni, des weiteren Herrn M. Giuliani, Wärter am Zoologischen Garten Basel und Herrn J. Waltisperg, Fischzuchtanstalt Sursee (Kt. Luzern).

Fräulein E. Sandmeier und Fräulein stud. phil. M. Rufener spreche ich für die sorgfältige Ausführung eines grossen Teils der Abbildungen meinen besten Dank aus.

Herrn K. Meyer und Herrn cand. phil. J. Lada sei für die Übersetzung polnischer, resp. schwedischer Texte und Fräulein cand. phil. A. Kress für ihre vielfältige Hilfe herzlich gedankt.

## II. MATERIAL UND TECHNIK

Zur Untersuchung gelangten zwei einheimische Süsswasser-Arten, *Coregonus alpinus* (Aalbock, Sandfelchen), Fam. Salmonidae und *Perca fluviatilis* (Flussbarsch, Egli), Fam. Percidae, sowie zwei Warmwasserfische, *Pterophyllum scalare* (Segelflosser), Fam. Cichlidae, und der vivipare *Lebistes reticulatus* (Guppy), Fam. Poeciliidae.

### a) Beschaffung und Aufzucht des Untersuchungsmaterials

Die Eier und Larven von *Pterophyllum scalare* stammten aus den Zuchten des Zoologischen Gartens Basel. Unmittelbar nach der Laichablage wurde das Blatt mit den angehefteten Eiern in ein separates Aquarium gebracht. Die Wassertemperatur wurde während der ganzen Aufzucht auf 27° C gehalten und das Wasser fortlaufend durch ein Torffilter gepumpt und durchlüftet. Vom 5. pT

an erhielten die Tiere täglich sogenanntes „Mikrofutter“ (*Anguillula silusiae*).

Das Laichmaterial von *Perca fluviatilis* verdanken wir einem Zufallsfund aus dem Sempachersee. Die Eier wurden in die Zoologische Anstalt Basel gebracht und dort bei 14° C und ständiger Luftzufuhr aufgezogen. Als Futter wurde lebendes Plankton verabreicht.

Das *Coregonus*-Material bezogen wir aus den Zuchten der Kantonalen Fischbrutanstalt, Faulensee, am Thunersee (Kt. Bern). Im Winter 1959/60 wurden für unsere Untersuchungen ein paar hundert Tiere separat im Brutraum der Fischzucht-Anstalt aufgezogen. Obwohl vom 20. pT an lebendes Seeplankton zugegeben worden war, hatte keiner der untersuchten Jungfelchen Nahrung zu sich genommen. Nach vollständiger Resorption des Dottersackes starben die restlichen Tiere. Deshalb wurden die Aufzuchten wiederholt. Im Winter 1960/61 wurde eine Anzahl Eier nach Basel gebracht und in der Zoologischen Anstalt in einem Eisschrank bei 8° C aufgezogen. Die Aquarien wurden mit Luft durchperlt, das Wasser alle 2—4 Tage gewechselt und der Eiskastenraum tagsüber mit einer Niedervoltlampe erhellt. Vom 20. pT an wurde die Brut täglich mit frisch geschlüpften Larven von *Artemia salina* erfolgreich gefüttert.

*Lebistes reticulatus* wurde in unseren Aquarien gezüchtet, bei einer konstanten Wassertemperatur von 22° C, ständiger Luftzufuhr und einem 12-stündigen Tag-Nachtrhythmus (künstliche Beleuchtung). Gefüttert wurde abwechselnd mit Tubifex und verschiedenen Trockenfuttern.

#### b) Untersuchungen am lebenden Tier (Habitus, Blutkreislauf)

Als Narkotikum gelangte durchgehend MS 222, ein Kaltblüter-Anaesthetikum der Firma Sandoz A.G., Basel, zur Anwendung, das sich auch in unseren Untersuchungen ausgezeichnet bewährt hat. Die Embryonen wurden meist zur besseren Beobachtung aus ihren Eihüllen befreit und dann in physiologischer NaCl-Lösung gehalten.

#### c) Histologische Untersuchungen

Die Fixierung erfolgte nach vorangehender Narkose zur Hauptsache in Bouin Duboscq. Für den Glykogennachweis wurden zusätzlich Formol/abs. Alkohol und das Gemisch nach Carnoy benützt.



Die Präparate wurden nach verschiedenen Methoden bis ins Paraffin geführt:

- 1) Methylbenzoat, Benzol;
- 2) Terpeneol-Alkohol nach Mayer;
- 3) Isopropylalkohol-Paraffin-Gemische mit nachfolgender Aufquellung der Blöcke, nach WESSING und CLAES (1958).

Zur Einbettung wurde ausschliesslich Merck-Paraffin (Smp. 56-58° C) mit Zusatz von Bienenwachs verwendet. Die Schnittdicke betrug 7  $\mu$  und 5  $\mu$ .

Die folgenden Färbungen wurden benützt:

- |   |                 |
|---|-----------------|
| 1) saures Haemalaun (nach Mayer)  | } Gegenfärbung: |
| 2) Haematoxylin (nach Weigert)  |                 |
| 3) Haematoxylin (nach Heidenhain)   |                 |
| 4) Haematoxylin (nach Prenant)  |                 |
| 5) Azan;  |                 |
| 6) May-Grünwald-Giemsa;   |                 |
| 7) P.A.S. (Periodic Acid Schiff) nach PEARSE (1960) als Glykogenachweis (mit Speichelprobe) |                 |

Untersucht wurden von *Pterophyllum*, *Lebistes* und *Coregonus* je ca. 100, von *Perca* 30 Exemplare.

### III. ALLGEMEINER TEIL

Da eine Reihe von Teleostierarten in ihrer Entwicklung schon bekannt sind und die wenigen Formen, die wir genau studiert haben, bereits eine grosse Mannigfaltigkeit an Erscheinungen zeigen, erwies sich ein vorangehender allgemeiner Überblick der Organe als notwendig.

Die Entwicklungszeiten und allgemeinen Entwicklungsabläufe umfassen eine derart weite Skala, dass wir uns gezwungen sahen, vorerst im Folgenden eine einwandfreie Basis für eine vergleichende Übersicht zu schaffen.

#### 1) BEOBACHTUNGSPERIODE

Die von uns überprüfte Entwicklungszeit umfasst die Embryonalperiode (Befruchtung bis Schlüpfen) und die Postembryonal-

phase (bis zum Ende des Dotterabbaues). Der anschliessende Abbau der Dottersack-Syncytiumreste ist nicht inbegriffen.

Wir geben das Alter unserer Tiere in Embryonaltagen (eT) und Postembryonaltagen (pT) an.

Da die Entwicklungsdauer einer Fischart von der Wassertemperatur abhängt, ist es in der Ichthyologie üblich, das Alter in sog. Tagesgraden (Anzahl der Tage  $\times$  Temperatur in Graden) anzugeben. Es wird also eine lineare Abhängigkeit von Temperatur und Zeit angenommen; die Entwicklungszeit einer Art in Tagesgraden wäre konstant. Eine Temperaturänderung beeinflusst jedoch sowohl das Wachstum als auch den Stoffwechsel und zwar in verschiedenem Ausmass; auch sprechen verschiedene Differenzierungsprozesse ungleich an (NEEDHAM 1931). So wurde bis jetzt nur in einem Fall (Forelle) bei verschiedener Wassertemperatur eine konstante Inkubationszeit in Tagesgraden gefunden (nach NEEDHAM). Bei den übrigen untersuchten Fischen (LINDROTH 1946) schwankt die Zahl der Tagesgrade sehr stark mit der Temperatur und zudem bei verschiedenen Fischarten in verschiedener Weise. Es erübrigt sich daher zu betonen, dass die Tagesgrade nicht zum Vergleich der Entwicklungsdauer verschiedener Fischarten dienen können. Wir fügen in Diagramm I trotzdem die Tagesgrade unseren Altersangaben in Klammer bei, damit sie mit den Daten anderer Arbeiten bei entsprechenden Versuchstemperaturen verglichen werden können.

Alle unsere Aufzuchten erfolgten bei konstanter Temperatur; es wurde jeweils die in der Literatur als optimal genannte Wassertemperatur gewählt.

Der Schlüpfmoment, der Scheidepunkt zwischen Embryonal- und Postembryonalzeit, markiert nicht ein bestimmtes Entwicklungsstadium. Der Entwicklungszustand am Schlüpftag, den wir im Folgenden auch Schlüpfzustand nennen, ist bei Fischen derart variabel von Gruppe zu Gruppe, dass man versucht ist, von „Nesthockern“ und „Nestflüchern“ zu sprechen. Auch innerhalb ein und derselben Art ist das Schlüpfdatum starken Schwankungen unterworfen. Bei erhöhter Temperatur setzt wie erwartet das Schlüpfen zeitlich früher ein, aber bei einer niedrigeren Entwicklung des Embryos. Embryoentwicklung und Eihüllenauflösung haben demnach einen wesentlich verschiedenen Temperaturkoeffizienten (GRAY 1928). Das Schlüpfdatum hängt auch von Umwelteinflüssen wie

Licht, Sauerstoffsättigung, Wasserstoffionenkonzentration, mechanischen Einwirkungen etc. ab. Das Alter des Muttertieres spielt ebenfalls eine Rolle, da die Eigrösse davon abhängt und ihrerseits die Dauer der Embryonalentwicklung beeinflusst (STEINMANN 1949). Auch der im gleichen Aquarium aufgezogene Laich ein und desselben Weibchens schlüpft oft nicht gleichzeitig; des weiteren können auch die Entwicklungsstadien gleichzeitig schlüpfender Tiere miteinander stark verschieden sein.

Wollen wir die in den nachfolgenden Abschnitten zusammengestellten Beobachtungen an den verschiedenen Fischarten in ihrem zeitlichen Ablauf zueinander in Beziehung bringen, so bieten also weder die totalen Entwicklungszeiten, noch die Embryonal- und Postembryonalzeiten getrennt, in Tagen oder Tagesgraden gemessen, eine Basis für einen solchen Vergleich. Wir haben deshalb eine neue Vergleichsgrundlage, in Prozenteinheiten, aufgestellt. Für jede Fischart wird die Zeitdauer von Befruchtung bis Ende des Dotterabbaues (Entwicklungszeit) als 100 angesetzt. Auf dieser prozentualen Skala werden im Folgenden die wichtigsten Daten eingetragen. Der relative Entwicklungsablauf kann so interspezifisch verglichen werden (Diagramm I).

## 2) DOTTERSACK

Die Form des ventral stark vorgewölbten Dottersackes ist oval bis kugelig. In den Embryonalstadien ist der Kopf meist mehr oder weniger im Dotter versenkt.

Beim frischgeschlüpften Tier kann sich das caudale Ende des Dottersackes bis zum Anus erstrecken oder verschieden weit cranial davon enden. Während der postembryonalen Resorptionsphase macht der Dottersack verschiedene Form- und Lageveränderungen durch, bis er vollkommen in die Körperumrisse aufgenommen und dann ganz abgebaut wird.

Das Nährmaterial besteht aus dem eigentlichen Dotter (Eiweissdotter) und einer weniger viskösen Substanz, dem sogenannten Oel. Dieses kommt entweder als kleine Oeltröpfchen verteilt im Dotter vor oder als einzige grosse Oelkugel, frontal im Dottersack liegend (ZIEGLER 1902; BERTIN 1958).

Das gesamte Dottermaterial wird von einem grosskernigen Syncytium umkleidet, das mit dem vorrückenden Blastoderm-

rand die Dotterkugel umwachsen hat. Es ist unter Namen wie „Periblast, Parablast, Dottersyncytium, Dottersackentoblast, Dotterentoderm, intermediäre Schicht“ in die Literatur eingegangen. Wir werden im Folgenden nur den Ausdruck „Syncytium“ anwenden.

Die meisten Kerne des Dottersyncytioms erreichen ihre ungewöhnliche Grösse gegen Ende der Eifurchung. Sie verlieren dabei ihre Fähigkeit, sich durch normale Mitosen zu teilen (WILSON 1891; ZIEGLER 1902). Anfangs liegen die ovalen Kerne mit ihrer Längsachse tangential; ihre Oberfläche verändert sich jedoch während der weiteren Entwicklung in eigentümlicher Weise: Furchen, Eindellungen, Knospungen beherrschen mehr und mehr das Bild. Die Kerne können sich strecken, weite Fortsätze aussenden und Teile abschnüren. Vielfach gruppieren sich die Kerne zu sogenannten Nestern und sind dann von Kerntrümmern umgeben (WILSON 1891; ZIEGLER 1902; CHEVEY 1924).

Über dem Syncytium liegen die Somato- und Splanchnopleura, die den gesamten Dottersack einhüllen. In letzterer verlaufen die Gefässe des Dottersackkreislaufs.

### 3) DOTTERSACK-KREISLAUF

Der Dottersack-Kreislauf ist auf der Höhe seiner Entwicklung rein venös.

PORTMANN teilt 1927 die bis anhin untersuchten Fischarten in zwei Gruppen ein: Bei den Formen des Typus 1 gelangt auf den fortgeschrittenen Embryonalstadien nur venöses Leberblut auf den Dotter; die Vena subintestinalis führt dem Darm entlang — also nicht über den Dotter — in die Leber (*Cottus*, *Gobius*, ev. *Gasterosteus*, *Perca* und *Salmo* (?), *Uranoscopus* und *Pholis*). Beim zweiten Typus wird der venöse Dotterkreislauf sowohl aus der Leber als auch von der Vena subintestinalis gespiesen, Beispiele: *Belone*, *Exocoetus*, *Cristiceps* (BORCEA 1909). Zusätzlich kapillarisieren sich die Ductus Cuvieri auf dem Dottersack.

KRYZANOWSKI (1934) gibt eine weitere Zusammenstellung. Wir können seine Angaben über den Ursprung des Dottersack-Kreislaufes in sechs Hauptgruppen sondern: 1) Vena subintestinalis (*Esox*, *Haplochilus*), 2) Vena hepatica (*Salmo*, *Coregonus*, *Perca*, *Acerina*), 3) Vena subintestinalis und Vena hepatica (*Gymnar-*

chus), 4) Ductus Cuvieri (*Cyprinidae*), 5) Kombination von 1)–4) (*Xiphophorus*), 6) Vena hepatica und Arteria vitellina (?) (*Cottus*, *Cottomorphus*).

BRACHET (1935) verzichtet darauf, eine Einteilung der verschiedenen Teleostier-Dottersackkreisläufe zu versuchen: „Les dispositions définitives du système vasculaire extraembryonnaire des Téléostéens sont très variables selon les espèces et leur description serait fastidieuse. Le seul point digne d'être signalé est que tout ce système est exclusivement veineux“.

Nach unseren Beobachtungen kann das Dottergefässnetz grundsätzlich von sämtlichen grossen Körpervenien gespiesen werden:

Die *Dd. Cuvieri*, die das Blut der *Vv. cardinales posteriores* und *anteriores* sammeln, können — je nach Lage des Sinus venosus — mehr oder weniger weit über den Dotter führen und sich dabei kapillarisieren.

Da die Leber stets dem Dotter anliegt, sind in der Regel die *Vv. hepaticae* entweder ausschliesslich, oder doch massgebend, am Dotterportalsystem beteiligt.

Auch die *V. subintestinalis* (*V. portae*) nimmt bei vielen Gruppen ihren Weg über den Dottersack. Des weiteren kann die *V. caudalis* ihr Blut über den Dottersack ergiessen.

Nachdem das Herzrohr sich gegliedert hat, wechseln die verschiedenen Abschnitte im Laufe der Entwicklung ihre gegenseitige Lage (was in dieser Arbeit nicht besonders beschrieben wird). Somit verschiebt sich auch der Sinus venosus, und entsprechend ändern die Dottervenen ihre Fliessrichtung.

*Funktion.* — Es wird allgemein angenommen, dass die vaskularisierte Dottersackoberfläche z. H. einerseits dem Gasaustausch (ev. noch Exkretion), anderseits der Aufnahme von Dotternährstoffen und deren Zuführung zum Embryo dient.

Dass das Dotterblutgefässsystem bis zum Einsetzen der Kiemenatmung die Atmungsfunktion übernimmt, wurde bereits 1835 von K. E. VON BAER angenommen. Neben dem Dotterportalsystem können jedoch auch andere als Atmungsflächen gedeutete Kapillarnetze auftreten: so beispielsweise in den Flossen, im Operkel, die Pseudobranchie. Da das rhythmische Schlagen der Brustflossen meist vor der Schwimmtätigkeit der Tiere einsetzt (im Embryonalstadium, im Anheftungsstadium), steht diese Aktivität wohl auch

im Dienste des Gasaustausches, indem sie in der perivitellinen Flüssigkeit, bzw. im Wasser eine Strömung erzeugt. (vgl. SPRENGER 1945)

Der Dotterkreislauf der Teleostier wurde seit je als ausgesprochenes Organ von Dotterresorption und -transport angesehen. Dass als weiteres zusätzliches, eventuell alleiniges, dotteraufnehmendes Organ die Leber in Frage kommen kann, haben die Autoren WILSON (1891) für *Serranus atrarius*, CHEVEY (1924) für *Perca fluviatilis* und PORTMANN und METZNER (1929) für *Salmo* und *Esox* aus ihren histologischen Beobachtungen über den direkten Leber-Dottersack-Kontakt gefolgert.

Da also angenommen wird, dass ausser dem Dotterkreislauf auch die Leber bei der Dotterresorption mitwirkt, und da anderseits der Dotterkreislauf sowohl im Dienste der Dotterresorption als auch der Atmung steht, wollen wir mittels unserer Beobachtungen versuchen, auf indirektem Wege die verschiedenen Funktionen gegeneinander abzugrenzen. In diesem Sinne kommen unseren Daten wie Ausbreitung, Verteilung, Abbau des Dotterkreislaufes und Einsetzen der Atembewegungen und der Brustflossentätigkeit Bedeutung zu.

*Bildung der Blut- und Endothelzellen.* — Diese werden bei den Teleostei nicht auf dem Dottersack gebildet; sie entstammen der sogenannten intermediären Zellmasse. Diese liegt frühembryonal zwischen den Skleromyotomen und den Seitenplatten und verschmilzt dann zu einem einheitlichen Längsstrang, der zwischen Chorda und Darm liegt und vom Kopf bis zum Anus reicht.

Die Zellen aus der intermediären Zellmasse des Rumpf- und Kopfgebietes wandern auf den Dottersack aus. Dort werden die ersteren zu Blutzellen, die letzteren zu Gefässzellen. (Die Blutzellenbildung bei planktontischen Eiern soll verschieden sein, ist jedoch noch nicht abgeklärt.) (BRACHET 1935)

COLLE-VANDEVELDE (1961 a, b, 1962) gibt im Gegensatz zu dieser klassischen Auffassung an, dass bei *Lebistes* und *Pterophyllum* die ersten Blut- und Endothelzellen auf dem Dottersack gebildet werden.

Die Kreislauforgane des Dottersackes liegen in der Splanchnopleura. Beobachtungen des Dotterkreislaufes am lebenden Tier geben somit bereits einen Anhaltspunkt, ob und wie weit das extraembryonale Coelom den Dotter umwachsen hat. In den

Endphasen der Dottersack-Resorption liegen die Gefäße nicht mehr dem Syncytium auf, sondern sind in dieses eingebettet.

#### 4) LEBER

Die Leber der Teleostier entsteht als ein ventraler massiver Auswuchs des Darmes. Bei allen von uns untersuchten Tieren befindet sich die Leberanlage etwas cranial der später auftretenden dorsalen Pankreasanlage und hinter der Brustflossenpalette. Die Leber liegt während der gesamten nun folgenden Entwicklungsphase ganz oder teilweise dem Dottersack auf und umwächst ihn auf verschiedene Weise.

Nachdem die Leber angelegt ist, bleibt sie noch eine Weile mit dem Darm in stark bindegewebigem Kontakt. Hat sich dieser gelöst, so steht die Leber nur noch durch den Ductus choledochus mit dem Darm in Verbindung.

Die Entwicklung der Leberstruktur bei Teleostei wurde von POHLMANN (1939) an drei Arten untersucht (*Trichopodus trichopterus*, UO Labyrinthici und *Cichlasoma bimaculatum* und *C. cutteri*, Fam. Cichlidae). Zusammenfassend ergibt sich folgendes Bild: Die Leberzellen sind im Anlagestadium ungeordnet; sie gruppieren sich alsdann zu Tubuli mit zentral verlaufenden Gallenkanälchen (einfach tubulöse Drüse). Durch Anastomosen der Leberbälkchen ist einige Tage später die Struktur bereits netzartig-tubulös. Die interzellulären Seitenkanälchen der zentral laufenden Gallenkapillaren bilden nun Maschen. Im Adultzustand haben sich die Tubuli, die bis anhin kreuz und quer lagen, radial um zentrale Blutgefäße geordnet. Es kommt aber nie zur Ausbildung von Lobuli.

Schon bald nach der Anlage der Leber finden sich vereinzelte Blutzellen im Randgebiet und kurz darauf, wenn sich die Zellen zu Tubuli gruppieren, durchziehen Blutgefäße das Organ, die sich dann später kapillarisieren.

Die Leber der Teleostei mit ihrem relativ sehr trägen Stoffwechsel ist also — wie wir sahen — sehr einfach strukturiert: Die Drüse ist netzförmig-tubulös und nicht aus Lobuli aufgebaut.

*Gallenblase und -Gänge.* — Bei allen unseren Tieren werden die Gallengänge von der in die Leber eintretenden V. portae begleitet. Die dünnwandige Gallenblase liegt in den frühen Stadien stets dem Dotter auf. Wenn die Chromatophoren in der Dottersplanchno-

pleura sichtbar werden, weist bald darauf auch die Gallenblase einen Pigmentmantel auf. Ihre Wand bleibt noch lange mit der die Leber umhüllenden Splanchnopleura in Verbindung. Die feine Blasenwand ist meist gespannt, was auf eine starke Füllung der Blase hinweist. Lange bevor die Futteraufnahme einsetzt, kann man beim lebenden Tier die gefüllte, gelbgrüne Blase erkennen.

*Zu- und abführende Gefässe.* — Die Leber erhält ihre arterielle Blutzufuhr aus der *A. mesenterica*. Die *V. portae* führt venöses Blut zu. — Das oder die abführenden Gefässe verzweigen sich bei allen unseren Tieren auf dem Dottersack. Während dessen Resorption reduziert sich das Gefässnetz auf meist eine oder zwei *Vv. hepaticae*, die dann direkt von der Leber ins Herz münden.

*Zellstruktur.* — Als cytologische Studie über die Leberentwicklung ist uns nur die erwähnte Arbeit von POHLMANN (1939) bekannt: Im Anlagestadium ist das Protoplasma ziemlich gleichmässig über die Zelle verteilt. Der Kern mit einem Nucleolus liegt zentral. Wenn die Zellen sich zu Tubuli gruppiert haben und Blutgefässe die Leber durchziehen, werden die Zellen bei *Cichlasoma bimaculatum* „plasmaarm, mit optisch leeren Räumen“, bei *C. cutleri* hat das Plasma ein retikuläres Aussehen, und bei *Trichopterus* ist die Struktur unverändert. Bis ans Ende der Dotterresorption bleibt sich das Bild bei *Trichopterus* weiterhin gleich, bei *Cichlasoma bimaculatum* werden die Zellen wieder „plasmareicher“ und bei *C. cutleri* weisen sie weiterhin wenig Plasma auf.

Über unsere verschiedenen Fischarten lässt sich übereinstimmend aussagen: Im Leberanlage-Stadium ist das Plasma gleichmässig über die Zelle verteilt; die Zellgrenzen sind unscharf. Der Kern liegt zentral. Mit der Durchblutung der Leber setzt auch deren Speichertätigkeit ein, die sich im histologischen Bild als Vakuolisierung des Zellplasmas äussert. Bei den im Folgenden beschriebenen „Netzfäden, Maschen, Brücken“ handelt es sich also um die quergeschnittenen Scheidewände des plasmatischen Schwammwerks (Spongioplasma), welche die Vakuolen umschliessen. Mit zunehmender Vakuolisierung werden die Zellgrenzen deutlich; anderseits werden die Gallenkapillaren unsichtbar. Die Hohlräume verlagern den Kern an die Peripherie und können ihn verformen.

*Zellform.* — Die vakuolenfreien Zellen haben im Balkenquerschnitt eine Dreiecks- und im Längsschnitt eine Rechteckform.



Mit der Vakuolisierung der Zellen nimmt auch deren Volumen zu. Die Zellen berühren sich überall dort, wo sie nicht an Blutgefässe grenzen, platten sich dadurch gegenseitig ab und nehmen polygonale Formen an. Es gilt auch hier, was PFUHL (1932) über die Leberzelle allgemein sagt: „Genau genommen besitzen Leberzellen überhaupt keine Eigenform. Sie sind in ihrer Form vielmehr unbegrenzt anpassungsfähig.“ Auch ihre Grösse scheint hauptsächlich der Ausdruck ihres Funktionszustandes zu sein.

#### IV. SPEZIELLER TEIL

##### 1) COREGONUS ALPINUS (Aalbock, Sandfelchen)

Fam. *Salmonidae*

Der Sandfelchen des Thunersees laicht im Winter (November/Dezember) auf dem Seegrund. Die Eizahl beträgt pro kg Körpergewicht durchschnittlich 30 000. Die Eier weisen einen Durchmesser von ca. 2.5 mm auf.

Die gesamte Entwicklungszeit unserer Tiere dauerte etwa 100 Tage, wovon bei 8° C 60 Tage<sup>1</sup> auf die Embryonalphase und 40 Tage auf die Postembryonalzeit entfielen. Die Schlüpfperiode erstreckte sich vom 55.—65. eT (Hauptschlüpftag 60. eT).

##### *Habitus.*

Der 30tägige Embryo (30%) zeigt die charakteristische embryonale Nackenbeuge. Die Augen sind bereits pigmentiert und die Brustflossenplatten vom Körper abgehoben.

Am 40. eT (40%) beträgt die Durchschnittslänge der Embryonen 8.5 mm. Der Kopf hat sich gestreckt; die Brustflossen schlagen rhythmisch.

Im Schlüpfstadium (60. eT; 60%) messen die Tiere durchschnittlich 9.5 mm, wovon der Schwanz nur ein Drittel ausmacht. Der Kopf hat sich weiterhin gestreckt; das Maul liegt jedoch noch ventral. Die Tiere schwimmen in Schräghaltung und bleiben von Zeit zu Zeit erschöpft seitlich liegen. (Fig. 2)

---

<sup>1</sup> Erste Embryonalperiode (25 Tage) in der Fischzuchtanstalt bei < 8° C.

Am 10.—15. pT (70-75%) hat die durchschnittliche Länge auf 11.2 mm zugenommen. Das Maul liegt frontal; die Kopfachse ist der Körperachse parallel. Bei den narkotisierten Tieren sind erstmals Atembewegungen (Maul, Operkel) zu beobachten.

Die Länge der Jungfische beträgt am 25.—30. pT (85—90%) durchschnittlich 12.1 mm. Im dorsalen Flossensaum beginnt sich die Rückenflosse abzuzeichnen. Die Nahrungsaufnahme hat eingesetzt. (Fig. 3)

Am Ende der Dottersack-Resorption (40. pT; 100%) messen die Tiere 13—14 mm. Die Paletten der Bauchflossen sind sichtbar. In der Schwanzflosse beginnt die Radienbildung. Die Schwimmblase ist noch nicht dilatiert; ihre Füllung mit Luft soll bei Felchen erst im Alter von 2—3 Monaten erfolgen (KRIEGSMANN 1949).

#### *Dottersack.*

Eiweissdotter und Oelkugel sind im lebenden Zustand transparent.

Um den 25. eT (25%) sieht man mehrere grössere Oelkugeln im frontalen Dottergebiet, die sich zwischen dem 30. und 40. eT (30—40%) zu einer grossen, cranial liegenden Oelkugel ansammeln, die nur caudal vom Eiweissdotter umhüllt wird. Der fixierte Eiweissdotter ist beim Embryo mit vielen kleinen Oelkugeln durchsetzt (Fig. 14).

Im Schlüpfzustand (60. eT; 60%) erstreckt sich der kugelig-ovale Dottersack nur über das erste Drittel des Rumpfes. Die zahlreichen kleinen Oeltröpfchen sind verschwunden; es bleiben meist 1—2 etwas grössere im Eiweissdotter eingebettete Oelkügelchen übrig (Fig. 2, 15).

Beim 10—15 tägigen Jungtier (70—75%) wölbt sich der Dottersack bereits nicht mehr vor; Oelkugel und Eiweissdotter haben eine längliche Form angenommen (Fig. 16).

Am 25.—30. pT (85—90%) ist der Eiweissdotter resorbiert; die frontale Oelkugel ist in verschiedener Grösse noch vorhanden. Am 40. pT (100%) ist auch diese abgebaut. (Fig. 3, 17)

*Syncytium.* — Am 30. eT (30%) sind bereits Dotterschollen im Syncytium eingelagert und die Kerne weisen Eindellungen auf.

Nach dem Schlüpfen (60 eT; 60%) beginnt sich das Oelkugel-syncytium vom Dottersyncytium strukturell zu unterscheiden. Ersteres lässt eine radiäre Faserung erkennen, die sich zentral

stark anfärbt. Letzteres weist eine äussere schmale, tangential strukturierte und eine innere breite, netzartige Zone auf, in welcher die Kerne liegen. Die Kerne des Oelkugelsyncytiums sind viel stärker verformt als die übrigen. An der Oelkugel/Dottergrenze ist das Cytoplasma verdickt und die Kerne treten gehäuft auf (Nester). Sämtliche Dottersack-Kerne enthalten zahlreiche Nucleoli.

Am 10.—15. pT (70—75 %) sind sowohl Dotter- als auch Oelkugelsyncytium stark verbreitert und ihre Struktur ist ausgeprägter (Fig. 28). Das Oelkugelcytoplasma staut sich in zwei dorsalen Längsleisten entlang des Darmes an.

Einige Tage, nachdem die Tiere zu fressen begonnen haben (um 90%), ist der Eiweissdotter aufgebraucht. Das Oelkugelsyncytium staut sich nun auch caudo-dorsal auf. Es ist in diesem Teil leicht vakuolisiert, zeigt nicht die radiäre Faserung wie das der Oelkugel noch anliegende Syncytium und enthält stark verformte Kerne. Die Kerne, die der Oelkugel anliegen, nehmen im frontalen Gebiet und später auch in den übrigen Teilen eine radiäre Lage und zum Teil „Kometenform“ an (Fig. 29 b).

Die frontale Oelkugel liegt direkt dem Eiweissdotter an, ist also nicht durch eine Syncytiumwand abgetrennt. Diese Situation bleibt so vom 40. eT (40%) bis kurz vor der vollständigen Resorption des Eiweissdotters. Nur in den allerletzten Stadien wird der Dotter ganz vom Syncytium eingehüllt.

#### *Dottersack-Kreislauf.*

Die zuführenden Gefässe entstammen alle der Leber. Die Vena subintestinalis führt ventral dem Darm entlang nach vorne, steigt dann links vom Darm hoch, über diesen hinweg auf die rechte Seite und mündet dort in das Pankreas und anschliessend in die Leber.

40 tägiger Embryo (40%). Die Leber liegt caudal dem Dottersack an. Von ihr aus wird auf der linken Seite der gesamte Dottersack, hauptsächlich caudal, umblutet; auf der rechten Seite ist das Gefässnetz auf den ventralen Teil beschränkt. Das meiste Dotterblut führt in einem Hauptstrom, der auf der linken Seite der Oelkugel-Dotter-Grenze entlang dorsal zieht, in den Sinus venosus.

Am Schlüpftag (60%) ist das Bild im wesentlichen das gleiche. Es haben sich verschiedene breitere Bahnen auf dem Dottersack gebildet (Fig. 2).

Vom 10.—15. pT (70—75%) ist der Kreislauf auf dem Dotter auf wenige Gefässe reduziert. Ein ventrales Quergefäss führt von rechts nach links zwischen Dottersack und Oelkugel, vereinigt sich dann mit den übrigen Dottergefässen und strömt immer noch auf der linken Seite entlang der Oelkugel/Dotter-Grenze herzwärts.

Vom 25. pT (85%) an ist der eigentliche Dotter meist resorbiert; die Lebergefässe umfliessen jetzt nur noch die Oelkugel und ergiessen sich als Hauptstrom, stets noch auf der linken Seite, ins Herz (Fig. 3).

Am 40. pT (100%) fliesst das Leberblut als Vena hepatica den Oelkugelsyncytium-Resten entlang herzwärts.

### *Leber.*

Beim 30 tägigen Embryo (30%) liegt die Leber noch dem hintersten Drittel des Dottersackes dorsal auf (Fig. 14); am 40. eT (40%) ist sie bereits an das caudale Ende des Dottersackes verlagert.

Am Schlüpftag (60%) ist die Leber weiter basalwärts ausgewachsen und auf die rechte Seite vorgedrungen. Ihre Lage wird dadurch median und ihre Form halbkugelig. Vom 10.—15. pT (70—75%) hat die Drüse den Eiweissdotter derart umwachsen, dass sie median und links im Sagittalschnitt die Form eines horizontal liegenden „V“ (Basis caudal) einnimmt. (Auf der rechten Seite wird sie vom Pankreas basalwärts verdrängt). Am 25. pT (85%) liegen die Eiweissdotter-Reste dorsal in die Leber eingebettet. Bis zum Ende der Entwicklungszeit (40. pT; 100%) liegt die Leber der Oelkugel an, hüllt sie also, im Gegensatz zum Eiweissdotter, nie ein (Fig. 15—17).

*Zellstruktur.* — Am 30. eT (30%) (Leberanlagestadium) ist das Plasma fibrillär und gleichmässig über die Zelle verteilt. Es werden viele Mitosen beobachtet (Fig. 26).

Im Schlüpfzustand (60%) (Leber durchblutet) sind die Zellen stark vakuolisiert. Der P.A.S.-Test zeigt, dass das Plasma mit Glykogen angefüllt ist. (Fig. 27)

Zwischen dem 10. und 15. pT (70—75%) hat die Vakuolisierung stark abgenommen. Auch die Glykogenspeicherung ist abgesunken. Vom 25. pT (85%) an sind die Leberzellen der ungefütterten Tiere vakuolen- und glykogenfrei. Bei den gefütterten Tieren nehmen

die Vakuolisierung und Glykogenspeicherung wieder langsam zu. (Fig. 28 a, 29 a)

Vom 3. pT an zeichnet sich medio-dorsal eine kleine Zone ab, deren Zellen zahlreichere und kleinere Vakuolen aufweisen als im übrigen Leberparenchym.

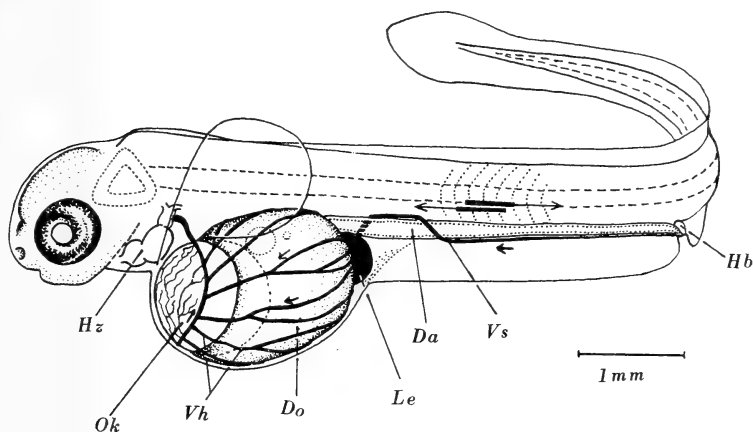


FIG. 2. — *Coregonus*, Schlüpftag (60. eT)

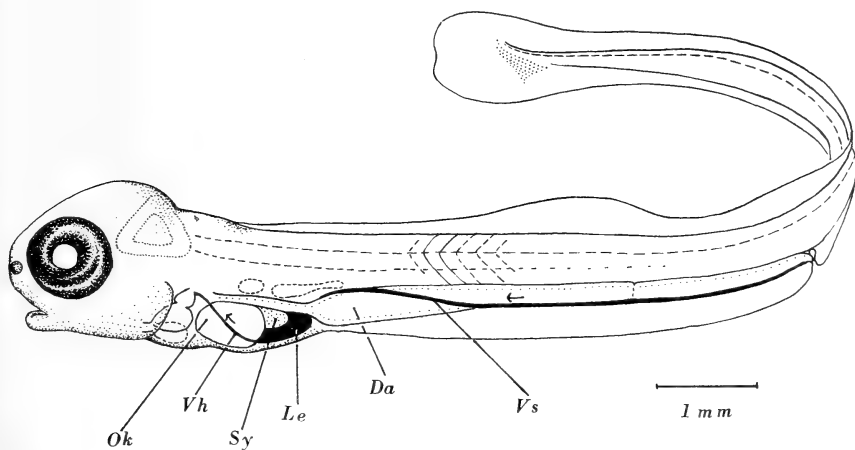


FIG. 3. — *Coregonus*, 25. pT.

#### *Splanchnopleura im Kontaktgebiet.*

Zwischen dem 30. und 40. eT (30/40%) wird die doppelte Splanchnopleura bereits z. T. auf eine Zellage reduziert. Im Schlüpfzustand (60%) besteht sie durchgehend nur noch aus einer Schicht.

Bis zum Ende der Eiweissdotter-Resorption (20. pT; 80%) sind stets Splanchnopleura-Zellkerne entlang der Kontaktgrenze zu finden. Manchmal fehlen sie auf langen Strecken, manchmal treten sie gehäuft auf. Gesetzmässigkeiten sind keine zu erkennen, ausser dass im ventralen Schenkel des Leber-V die Häufigkeit der Kerne stets geringer erscheint als im übrigen Gebiet. In den letzten Phasen der Eiweissdotter-Resorption werden in der Kontaktzone meist grosse Vakuolen angetroffen, die in der Splanchnopleura zu liegen scheinen. Ihre Kerne werden dadurch verformt. Bis zum 40. pT (100%) grenzt nun die Leber an die Oelkugel; die Kontaktzone ist stets von Blutgefässendothelien und Bindegewebe durchsetzt. (Fig. 26—29).

## 2) PTEROPHYLLUM SCALARE (Segelflosser)

### Fam. *Cichlidae*

Gute Zuchtpaare können in Abständen von einigen Wochen laichen (MEINKEN).

Unsere Laiche bestanden durchschnittlich aus 50 Eiern, die an einem Sagittaria- oder Valisneriablatt, das vorher von den Elterntieren gesäubert worden war, angeheftet wurden.

Die Eier sind oval ( $1.7 \times 1.4$  mm). Die Entwicklungszeit beträgt 10 Tage (bei 27° C). Die Embryonalzeit dauert 2 Tage; das Schlüpfen eines Geleges erstreckt sich über wenige Stunden. Die Postembryonalzeit beginnt mit dem Anheftungsstadium (5 Tage), während dem die Larven mit dem Sekret ihrer Klebedrüsen am Blatt festhaften. Das freie Stadium (3 Tage) beginnt mit der Nahrungsaufnahme und dem freien Schwimmen und endet mit der völligen Resorption des Dottersackes.

Den Jungtieren kommt in der freien Natur eine ausgedehnte Fürsorge durch die Eltern zu: Am Schlüpftag werden (nach MEINKEN) die Jungen von den Eltern aus der Eihülle herausgekaut und an Schleimfäden an das Blatt gehängt. Während der Anheftungsphase nehmen die Eltern die Jungtiere wiederholt (ev. stündlich) in das Maul, um sie an einem andern Blatt wieder abzusetzen. In der anschliessenden freien Postembryonalphase werden die Jungtiere von den Eltern geführt. (MEINKEN; INNES 1945; SLAWINSKI 1959). Elterliche Fürsorge ist für die Familie der Cichliden bezeichnend, für *Pterophyllum* jedoch nicht lebensnotwendig. Im

Laboratoriumsversuch gelingt es gut, den Laich separat aufzuziehen.

### *Habitus.*

Anheftungsphase. Schlüpftag (20%). Die Durchschnittslänge der Tiere beträgt 3.4 mm. Der Kopf liegt dem Dotter auf; die Augen sind noch unpigmentiert. Frontal erkennt man die sekretabsondernden Haftdrüsen (eine Zweier- und weiter caudal eine Vierergruppe). Rostral vom After geht der Flossensaum in die sog. Präanalflosse über (Fig. 5).

Am 2. pT (30%) hat die Länge durchschnittlich auf 4.1 mm zugenommen. Der Kopf hat sich vom Dottersack abgehoben; die Augen sind pigmentiert. Die Brustflossenpaletten heben sich deutlich ab. Die Tiere können sich in seitlicher Lage fortbewegen. Am 3. pT (40%) setzen die Atembewegungen (Maul und Operkel) ein (Fig. 6).

Am 4. pT (50%) misst die Länge der Tiere 5.3 mm im Durchschnitt. Der Kopf hat sich soweit gestreckt, dass das Maul frontal zu liegen kommt. Die Bauchflossenanlagen sind erkennbar. Das rhythmische Schlagen der Brustflossen setzt ein. (Fig. 7)

Freie Phase. Am 6. pT (70%) hat sich die Länge der Tiere auf 5.6 mm erhöht. Die Präanalflosse ist fast ganz atrophiert. Die Fische haben sich vom Blatt gelöst; nach Füllung der Schwimmblase schwimmen sie horizontal und bilden einen Schwarm. Die Nahrungsaufnahme hat begonnen.

Am 7./8. pT (80—90%) sind die Tiere durchschnittlich 6.3 mm lang. Das Maul ist dorsal verlagert. Die Klebedrüsen sind stark atrophiert und sezernieren nicht mehr. (Fig. 8)

### *Dottersack.*

Der Eiweissdotter ist im lebenden Zustande opak. *Pterophyllum* hat am Schlüpftag (20%) einen ovalen Dottersack; zwischen seinem caudalen Ende und dem After ist die stark durchblutete Präanalflosse ausgespannt. Der Eiweissdotter ist im fixierten Zustand in polygonale Plättchen zerlegt und enthält viele kleine Oelkugeln. (Fig. 5, 18)

Am Ende der Anheftungsphase (65%) hat der Dottersack eine kugelige Gestalt. Durch den starken Abbau im Eiweissdotter hat der oelhaltige Anteil relativ stark zugenommen. (Fig. 7)

In der freien Phase (ab 65%) nimmt auch der Oelanteil ab; im Endstadium der Resorption werden sowohl Oelkugeln als auch Eiweissdotter abgebaut (Fig. 19).

*Syncytium.* — Das am Schlüpftag (20%) schmale Syncytium nimmt mit Abnahme des Dotters relativ an Masse zu und erscheint dann im Schnittbild sehr breit. Vom 3./4. pT (40/50%) an sind Dotterschollen sowie Oelkugeln darin eingebettet. Die Kerne enthalten meist zwei sehr grosse Nucleoli. Die Oberfläche der Kerne verändert sich mehr und mehr, und gegen Ende der Anheftungsphase nimmt ein Teil eine radiale Stellung ein. In den Endstadien (ab 8. pT; 90%) sind sämtliche Kerne radiär ausgerichtet. Sie haben eine kometenartige Form angenommen; die Nucleoli sind in die gegen das Zentrum weisenden „Köpfe“ verlagert; die „Schwänze“ färben sich sehr stark an. Die Kerne sind in Nester gruppiert. (Fig. 18, 19, 30–32)

#### *Dottersack-Kreislauf.*

Das Dotterportalsystem erhält sein Blut aus der Vena caudalis, der Vena subintestinalis und den Venae hepaticae. Es werden zwei weitere Kapillarnetze beobachtet:

- 1) Ein Gefässnetz im postanalen Flossensaum („Analflosse“), das sich basal in der V. caudalis — wir nennen sie V. caudalis inferior — sammelt.
- 2) Die V. caudalis inferior führt in den Rumpf und verzweigt sich, bevor sie auf den Dotter übertritt, in der sog. „Präanalflosse“.

Verzweigungen der V. caudalis inferior werden nach KRYZANOWSKY (1934) auch bei anderen Fischen gefunden (Cyprinidae u. a.); eine vaskularisierte „Präanalflosse“ hingegen wurde, laut diesem Autor, nur bei *Hemichromis* (einem Cichliden) beobachtet.

Im Schlüpfmoment (20%) ist der Dottersackkreislauf ausgebildet, und Präanal- sowie Analflosse sind durchblutet. Die Vena subintestinalis tritt jedoch noch nicht in Erscheinung; die Arteria mesenterica sendet ihr Blut vorübergehend in die Präanalflosse (Fig. 5).

Am 2. pT (30%) ist die Vaskularisierung der Präanalflosse am ausgeprägtesten. Während sie am Schlüpftag fast ausschliesslich Blut aus der Vena caudalis erhielt, kapillarisiert sich jetzt auch



die Vena subintestinalis in ihr. Die Blutzufuhr aus der Leber auf den Dotter ist verstärkt. Die Ductus Cuvieri haben sich nach vorne, an den frontalen Dotterrand, verlagert; sie gehen jetzt unter dem Oesophagus eine Querverbindung ein; die absteigenden Schenkel münden basal ins Herz ein. (Fig. 6, 4)

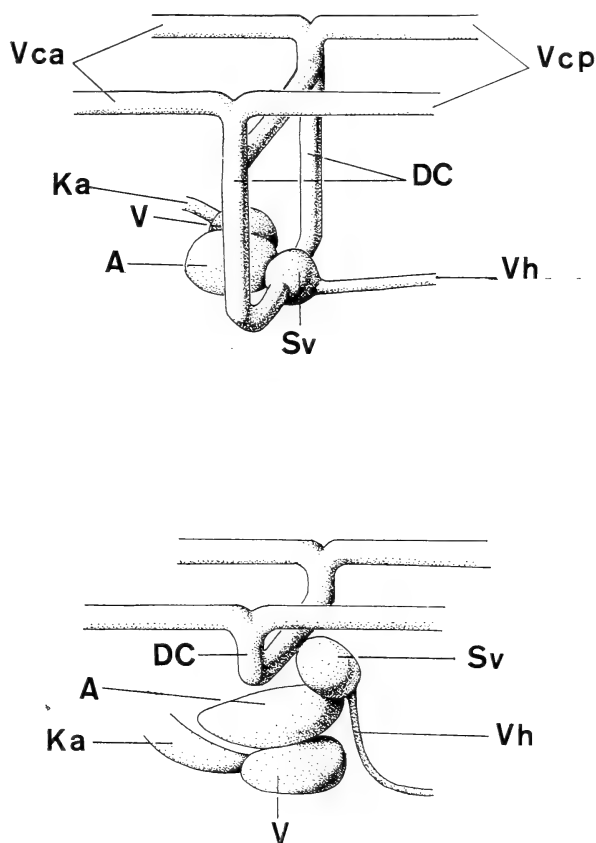


FIG. 4. — Ductus Cuvieri und seine Veränderungen bei *Pterophyllum*  
oben: 1.—3. pT unten: ab 4. pT.

Am 4. pT (50%) ist die Durchblutung der Analflosse verschwunden; das Schwanzblut kehrt nun dicht unter der Aorta als Vena caudalis profunda in den Rumpf zurück. Somit erhält die Präanalflosse nur noch Blut aus der Vena subintestinalis; die Flosse selbst ist ebenfalls stark abgebaut. Die Haupt-Blutzufuhr auf den

Dotter stammt aus der Leber. Durch die Verlagerung der Herzabschnitte münden nun die Ductus Cuvieri dorsal ins Herz ein. Ihre Querverbindung führt direkt in den Sinus venosus; die absteigenden Schenkel sind verschwunden (Fig. 7, 4).

Am 5. pT (60%), dem letzten Tag der Anheftungsphase, ist die Präanalflosse — und damit ihr Gefässnetz — fast ganz abgebaut. Die Dotterreste werden von der Leber eingehüllt und von ihren Blutbahnen umspült.

#### *Leber.*

Am Schlüpftag (20%) ist die Leber angelegt. Am 3./4. pT (40/50%) ist sie bereits ventral- und hauptsächlich caudalwärts vorgestossen und greift unter dem Enddarm auf die rechte Seite hinüber. Die Umwachsung schreitet im gleichen Sinne fort; die letzten Dotterreste werden von der Leber fronto-dorsal eingehüllt. (Fig. 5—8, 18, 19)

Das Zellplasma ist am Schlüpftag (20%) fein granuliert und gleichmässig über die Zelle verteilt. Am 3. pT (40%) werden bereits Vakuolen im Cytoplasma angetroffen. Die Glykogenfärbung zeigt Körnchen im Plasma und Schollen in den Vakuolen über das ganze Organ verteilt. Am 4. pT (50%) ist die Leber im Stadium der grössten Vakuolisierung. Das Plasma ist um den Kern konzentriert und begrenzt im Schnittbild als feine Fäden die grossen Vakuolen. Die Zellfläche ist im Schnitt ca. dreimal grösser als am Schlüpftag. (Fig. 30, 31)

Vom 5. pT (60%) an nimmt die Vakuolisierung ab; die Glykogenspeicherung ist ebenfalls vermindert. Am 8. pT (90%) — drei Tage nach Beginn der Nahrungsaufnahme — sind in den Leberzellen fast keine Vakuolen mehr sichtbar. Vom 9. pT (100%) an nehmen die paraplasmatischen Hohlräume wieder zu. Glykogen wird nachgewiesen (Fig. 32).

#### *Splanchnopleura und Leberkontakt.*

Am Schlüpftag (20%) sind sowohl Leber als auch Dottersack im Kontaktgebiet von je einer Splanchnopleura umgeben. Chromatophoren sind bereits in die Splanchnopleura eingewandert; sie finden sich beispielsweise zwischen Darm und Dotter, nicht aber entlang der Dotter-Leber-Grenze. Am 3. pT (40%) ist die Splanchnopleura im Kontaktgebiet durchgehend einschichtig, und am 4. pT

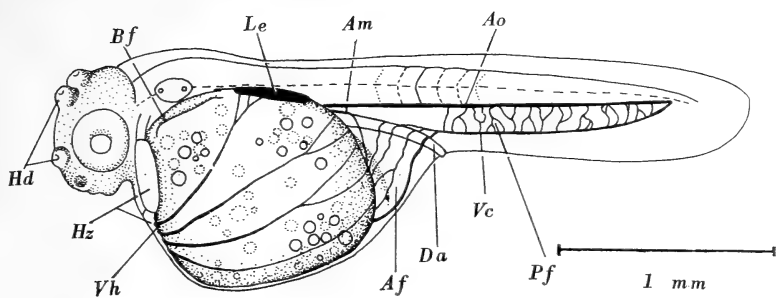


FIG. 5. — *Pterophyllum*, Schlüpftag (2. eT), Oelkugeln nur angedeutet.

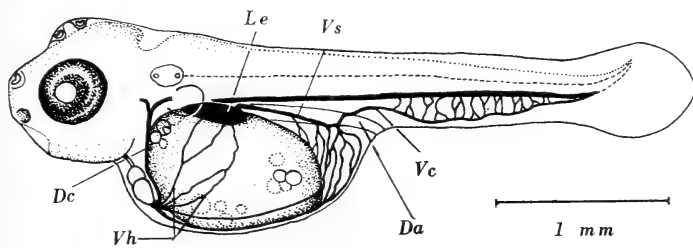


FIG. 6. — *Pterophyllum*, 2. pT., Oelkugeln nur angedeutet.

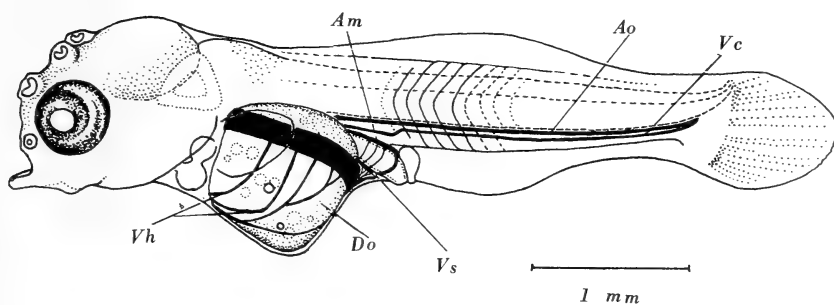


FIG. 7. — *Pterophyllum*, 4. pT., Oelkugeln nur angedeutet.

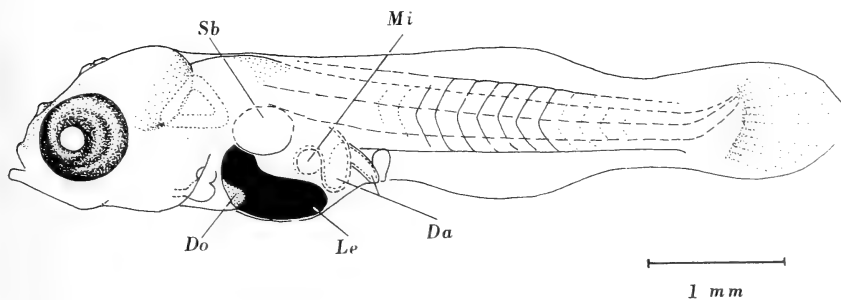


FIG. 8. — *Pterophyllum*, 8. pT (freie Phase).

(50%) beginnen Chromatophoren in dieses Gebiet einzuwandern. Das Bild im Kontaktgebiet ändert sich nicht bis zum 7. pT (80%), wo entlang der Grenze grosse Vakuolen, die in der Splanchnopleura zu liegen scheinen, angetroffen werden. (Fig. 30—32)

Am 3./4. pT (40/50%) wird dort, wo die Splanchnopleura frei ans Coelom grenzt, ein Niederschlag mit vereinzelt Zellen darin beobachtet. Diese entstammen der Dottersack-Splanchnopleura; die verschiedenen Stadien ihrer Genese, bzw. Loslösung aus dem Zellverband, konnten am 8. pT (90%) beobachtet werden. Die Zellen sowie ihr Kern sind rund im Schnitt. Zellprotuberanzen werden gelegentlich beobachtet. Einzelnen Zellen haften noch Zellen mit spindelförmigen Kernen an. Die freien Zellen enthalten meist mehrere Vakuolen. Im Kontaktgebiet liegen in diesem Stadium die Splanchnopleura-Zellkerne oft eng aneinandergerückt. Bei der Hälfte der Tiere wurden einzelne freie Zellen im Lumen der oben beschriebenen Vakuolen angetroffen. Eine Ablösung der Splanchnopleura oder eine Anhäufung von freien Zellen konnte in der Kontaktzone jedoch nie beobachtet werden. (Fig. 39)

### 3) LEBISTES RETICULATUS (Guppy)

#### Fam. Poeciliidae

Die Ordnung der Cyprinodontes und die Familie der Poeciliidae, denen *Lebistes* zugeteilt wird, umschliessen sowohl ovipare wie vivipare Formen.

Der Guppy ist lebendgebärend. Die Analflosse des Männchens ist zu einem Gonopodium umgestaltet und funktioniert mit den beiden Bauchflossen zusammen als Begattungsorgan. Die Spermien werden vom Weibchen gespeichert und können zur Befruchtung mehrerer aufeinanderfolgender Eigruppen dienen. Die Eier haben kurz vor der Befruchtung einen Durchmesser von 1.6 mm. Die Embryonen machen ihre gesamte Entwicklung im Ovarfollikel durch. Die Eimembran ist äusserst dünn. Die über dem Follikel-epithel liegende Theca ist durch den mütterlichen Kreislauf stark vaskularisiert.

*Lebistes* laicht das ganze Jahr über. Die Trächtigkeitsdauer wird nach TURNER (1937) und ROSENTHAL (1952) stark von der Tageslänge beeinflusst. Unsere Versuchstiere wurden bei gleich-

mässigem Tag- und Nachtrhythmus gehalten. Die Zeitspanne zwischen zwei Laichablagen betrug durchschnittlich 35 Tage, diejenige zwischen Abweichdatum und Befruchtung des folgenden Eisatzes (Eireifungszeit) 5 Tage.

*Lebistes* wird von TURNER (1940) zu den Poeciliiden ohne Superfoetation eingereiht, was besagen will, dass abgelaicht wird, bevor der nächstfolgende Eisatz befruchtet ist. ROSENTHAL (1952) hingegen beobachtete in einigen Ovarien zwei Gruppen verschieden weit entwickelter Embryonen. Wir fanden in den Ovarien sämtlicher Trächtigkeitsstadien nie alle Embryonen im gleichen Entwicklungsalter vor. Weitaus der grösste Teil jedoch war jeweils im selben, und zwar stets fortgeschrittensten Entwicklungsstadium; die wenigen „Nachzügler“ waren verschieden weit im Rückstand und wurden bei unseren Beobachtungen vernachlässigt.

Die Anzahl der Jungfische pro Laich betrug im Durchschnitt 40.

Die Entwicklungszeit unserer Tiere dauerte 36 Tage (bei 22° C). Davon entfallen 30 Tage auf die Embryonalzeit und 6 Tage auf die Postembryonalzeit. Das Schlüpfen aus den Eihüllen erfolgt nach unseren Beobachtungen kurz vor der Geburt. Das Abweichen erstreckt sich über 1—2 Tage.

Verschiedene Autoren versuchten nachzuweisen, dass die Viviparität der Poeciliidae mit plazentaren Leistungen der Mutter verbunden sei. Dies scheint uns keineswegs abgeklärt (BAILEY 1933; TURNER 1937, 1940; SCRIMSHAW 1944, 1945; TRINKAUS und DRAKE 1952; ROSENTHAL 1953). Wir haben im Embryonalleben von *Lebistes* zwei auffällige embryonale Sonderstrukturen beobachtet, über die an anderer Stelle ausführlicher berichtet wurde, und die zur weiteren Abklärung dieser Frage herangezogen werden könnten:

1) Im Laufe der Embryonalentwicklung erweitert sich das stark durchblutete Perikard und umhüllt den Kopf wie eine Kapuze. Im weiteren Verlauf wird die Kapuze bis auf ein schmales Kopfband abgebaut. Mit Einsetzen der Operkelbewegungen (Kiemenatmung) wird das Band dorsal gespalten und gleitet seitlich ab (KUNZ).

2) Die Harnblase von *Lebistes* vergrössert während der Embryonalzeit ihr Volumen ungewöhnlich stark, und zwar derart.

dass sie nach und nach fast den gesamten früheren Dottersackraum einnimmt. Auf diese Weise bleibt während der ganzen Embryonalentwicklung das Dottergefäßnetz an den mütterlichen Kreislauf gepresst (KUNZ 1963).

### *Habitus.*

Am 10. eT (28%) misst der Embryo 3.6 mm. Während am 5. eT der Kopf dem Dottersack noch auflag, ist er nun soweit im Dotter eingesunken, dass dieser die bereits pigmentierten Augen vollständig bedeckt. Die Brustflossenpaletten, sowie die Anal- und Schwanzflossen-Anlage sind sichtbar.

Am 15. eT (42%) hat die Länge auf 5.1 mm zugenommen. Der Dotter bedeckt die Augen noch bis zur Hälfte. In den Brustflossen, die gelegentlich zucken, sowie in der Schwanzflosse beginnen sich Radien abzuzeichnen. (Fig. 9).

Beim 20tägigen Embryo (56%), der bereits 6.1 mm misst, wird meist noch der untere Augenrand vom Dotter bedeckt. Auch in der Dorsalflosse hat die Radienbildung eingesetzt. Die Bauchflossen sind angelegt; die Brustflossen schlagen rhythmisch. Atembewegungen (Maul) werden beobachtet. Die Operkelbewegungen setzen am 25. eT (70%) ein. (Fig. 10, 11)

Am Schlüpftag (30. eT) (84%) messen die Jungtiere 8.5 mm. Ihr Maul ist bereits etwas oberständig. Während des ersten Lebens-tages nehmen sie in der Regel Nahrung auf und schwimmen in horizontaler Lage (Schwimmbblasen-Füllung).

Am 6 pT (100%) liegt die Länge der Tiere zwischen 9.6 mm und 10.6 mm. Auch in den Bauchflossen sind nun Radien zu erkennen.

### *Dottersack.*

*Lebistes* hat am 10. eT (28%) einen stark vorgewölbten, kugeligen Dottersack, der frontal beidseitig den Kopf einbettet und caudal bis an den Anus grenzt. Der Dottersack bleibt bis ans Ende der Embryonalzeit vorgewölbt, da er durch die Harnblase von innen her unter Druck steht und peripher gedrängt wird.

Gegen den Schlüpftag zu haben die an die Dottersackwand gepressten Dotterreste eine Herzform angenommen; deren Basis liegt, spitz ausgezogen, unmittelbar unter dem After; die frontale Dotterpartie greift in zwei Lappen noch bis zum Operkel. In der Entwicklung fortgeschrittenere Tiere weisen nur noch fron-

tal Dotterreste auf. Die Situation ändert sich kurz vor dem Schlüpfen (30. eT; 84%) durch Entleerung der Harnblase. Das Schrumpfen der Blase bewirkt das Einziehen sämtlicher Dotterreste, sodass *Lebistes* ohne äusserlich sichtbaren Dottersack geboren wird. (Fig. 9—11)

Im Schnittbilde ist der Eiweissdotter vom 10.—20. eT (28—56%) kompakt; er enthält mehrere Oelkugeln. Am 25. eT (70%) ist der ganze früher kompakte Eiweissdotter in unregelmässige Schollen zerlegt. Nach dem Schlüpfen (> 84%) liegen die Dotter- und Oelreste regellos und z. T. isoliert zwischen den Eingeweiden. Sie werden von nun an in gleichem Ausmass abgebaut und sind am 6. pT (100%) aufgebraucht. (Fig. 20—22)

*Syncytium*. — Bereits am 10. eT (28%) findet sich im Syncytium Oelkugel an Oelkugel. In dem dazwischen liegenden Cytoplasma häufen sich die Dotterkugeln; ihre Grösse nimmt nach aussen zu ab. Mit der Resorption des Dotters nimmt das Syncytium an Breite zu. Dadurch liegen die Oelkugeln am 20. eT (56%) in zwei Lagen übereinander. Der an die Eingeweide grenzende, also der dorsale Teil des Syncytiums, unterscheidet sich vom übrigen, indem er schmaler ist und nur wenige Oelkugeln und weit weniger Dotterschollen eingelagert enthält. (Bei der nahverwandten Art *Gambusia patruelis* machte RYDER (1885) entsprechende Beobachtungen.). (Fig. 20—22, 33—35)

Die Dotterkerne machen während der ganzen Entwicklungszeit die typischen Verformungen durch; erst nach dem Schlüpfen werden sie pyknotisch.

#### *Dottersack-Kreislauf.*

Über die Blutversorgung der *Lebistes*-Embryonen finden sich spärliche Angaben bei PURSER (1940), ausführlichere bei TURNER (1940). Die Entwicklung des Kreislaufs wurde von beiden Autoren nicht verfolgt; sie haben nur das Kopfband-Stadium (ca. 20. eT) beachtet. Wir versuchen im Folgenden, ein Gesamtbild der Gefässentwicklung zu geben.

Das Dotterportalsystem wird aus folgenden Quellen gespiesen:

- 1) aus den beiden Ductus Cuvieri;
- 2) aus der Lebervene (die vorübergehend doppelt auftreten kann);

- 3) aus der Vena caudalis;
- 4) aus einer weiteren Lebervene, der Vena hepatica posterior (post. intestinal vein), die jedoch nur transitorisch auftritt, und in die Vena caudalis mündet, bevor sich diese auf den Dottersack ergießt.

Um den 15. eT (42%), bei vollausgebildeter Kapuze, wird der Dottersack-Kreislauf hauptsächlich aus den Ductus Cuvieri gespeisen. Sie verzweigen sich auf dem Dottersack und senden jederseits einen Hauptstrom dorsocranial und einen zweiten dorsocaudal, welche sich beide in ein dichtes anastomosierendes Gefässnetz auflösen. Der vordere Zweig versorgt ausserdem die Kapuze. Die Vena caudalis speist den caudalsten Teil des Dottersack-Kreislaufs. Bei manchen Tieren kehrt das Schwanzblut in diesem Stadium nicht unmittelbar unter der Aorta (also als V. caudalis dorsalis) zurück, sondern als V. caudalis ventralis; bei einigen Tieren können beide Venen gleichzeitig ausgebildet sein. Die Vena hepatica mündet in den dorso-caudalen Hauptast des linken Ductus Cuvieri kurz nach dessen Abspaltung. Die Vena hepatica post. läuft als feines Gefäss entlang der linken Darmseite ventralwärts. (Fig. 9)

Am 20. eT (56%) versorgen die Ductus Cuvieri nur den aller-vordersten Dottersackanteil, und vor allem die auf ein Kopfband rückgebildete Kapuze. Das caudale Dotterdrittel wird beiderseits stets von der Vena caudalis umblutet, die nun kurz vor ihrem Abstieg auf den Dotter venösen Zufluss aus der Gegend der Anal-flosse enthält. Die linke Dottersackhälfte wird in ihrem mittleren Teil von der Vena hepatica, die bei einigen Tieren doppelt ausgebildet ist, versorgt. Die Vena hepatica posterior ist verschwunden. Die Dotterportalgefässe vereinigen sich meist zu drei ventralen Hauptstämmen, die dann in den Sinus venosus münden. (Fig. 10)

Unmittelbar vor dem Schlüpfen — 30. eT (84%) — ist die Kapuze verschwunden. Die Ausdehnung des Dottergefässnetzes hat stark abgenommen und beschränkt sich auf die ventrale Partie. (Fig. 11)

Das Schnittbild der ersten Postembryonaltage zeigt, dass die Ductus Cuvieri nun unverzweigt zwischen den eingezogenen Dotter-resten herzwärts führen; der linke nimmt kurz vor seiner Einmündung in den Sinus venosus die Vena hepatica auf (Fig. 22). Der



absteigende Zweig der Vena caudalis wird basal zwischen den Dotterschollen beobachtet; er ist am 5. pT verschwunden.

#### *Leber.*

Die Leber ist am 10. eT (28%) angelegt. Sie nimmt im Laufe der weiteren Entwicklung hauptsächlich in dorsoventraler und frontocaudaler Richtung zu. Sie gleitet also nicht über den Dottersack, sondern breitet sich im Coelom aus; ihre Kontaktfläche mit dem Dotter nimmt nur wenig zu. Trotzdem die anschwellende Harnblase bis zum Schlüpftag fast den gesamten Körperraum einnimmt, bleibt der basale Teil der Leber stets mit dem Dottersack in Berührung. Nach dem Schlüpfen liegt die Drüse in den eingezogenen Dotter eingebettet (Fig. 9—11, 20—22).

Am 10. eT (28%) sind oft bereits Vakuolen im Plasma zu erkennen. Die Vakuolisierung erreicht vom 25.—30. eT (70—84%) ihren Höhepunkt und nimmt dann in den ersten Postembryonalstadien, trotz der Fütterung, wieder ab. Glykogenreserven werden vom 10. eT an nachgewiesen; sie nehmen im Laufe der Embryonalzeit zu (Fig. 33—35).

Hungerversuche an Postembryonal-Tieren ergaben, dass trotz erheblicher Dotterreste das Fettgewebe im Pankreas — das sich bereits am 25. eT formt — aufgebraucht wird und die Vakuolen aus dem Leberparenchym verschwinden. (ROSENTHAL (1953) schreibt, dass der Fettgehalt von *Lebistes* nach der Geburt leicht absinke. Er glaubt, dass Dottermaterial als Nahrungsquelle benützt wird, weil die Tiere erst nach einigen Stunden zu fressen anfangen.)

#### *Splanchnopleura und Leberkontakt.*

Am 25. eT (70%) wird die Dottersack-Splanchnopleura an verschiedenen Stellen abgebaut. Ihre Zellen lösen sich aus dem Gewebe und werden dann im Coelom flottierend, mit Vakuolen durchsetzt, angetroffen. Meist wird dort, wo sie gehäuft auftreten, ein starker Niederschlag von koaguliertem, acidophilem Material angetroffen, der später v. a. auch im Perikard, dann um die Leber und auch sonst im Coelom beobachtet wird.

In den Postembryonalstadien werden die freien Zellen vermehrt angetroffen; des öfteren beobachtet man isolierte Dotterschollen bar jeglichen umhüllenden Mesothels.

Im Kontaktgebiet ist die Splanchnopleura am 10. eT (28%)

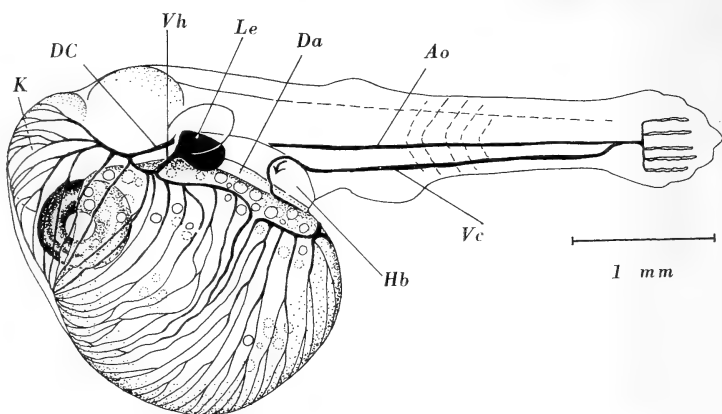


FIG. 9. — *Lebistes*, 15. eT (aus Eihülle befreit)

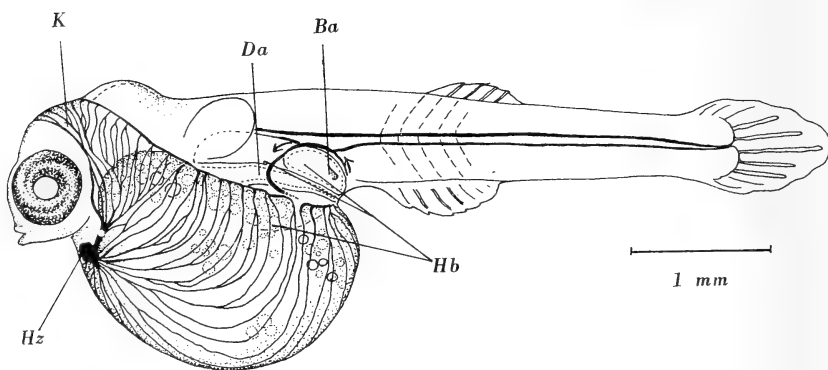


FIG. 10. — *Lebistes*, 20. eT (aus Eihülle befreit).

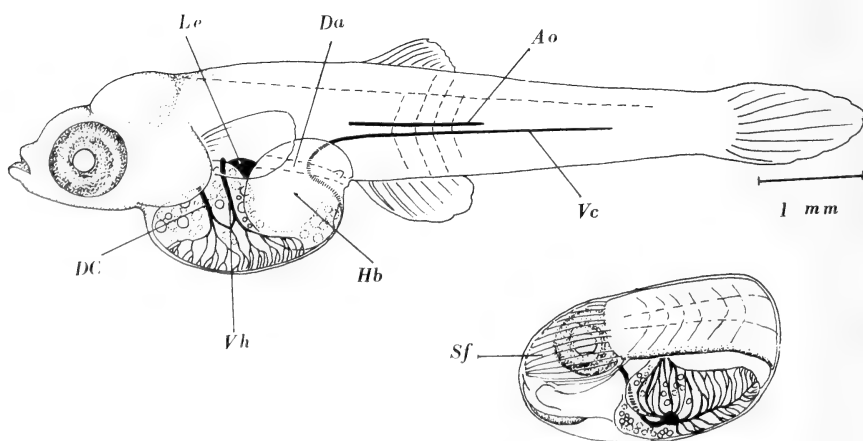


FIG. 11. — *Lebistes*, 25. eT oben: aus Eihülle befreit;  
unten: Lage im Follikel.  
In allen Abbildungen Oelkugeln nur angedeutet.

doppelt; am 20. eT (56%) ist nur noch eine Zellage erkennbar. Dieses Bild ändert sich nicht bis ans Ende der Dotterresorption. Die Leber-Dotter-Kontaktfläche bleibt während der gesamten Embryonalzeit gering; der oben beschriebene Abbau der Splanchnopleura wurde in diesem Gebiet nicht beobachtet. (Fig. 33—35)

#### 4) PERCA FLUVIATILIS (Flussbarsch, Egli)

##### Fam. *Percidae*

Die postembryonale und embryonale Entwicklung von *Perca fluviatilis* wurde bereits von CHEVEY (1925) eingehend behandelt. Er hat bei dieser Art den primären direkten Leber-Dottersack-Kontakt beobachtet und verschiedene histologische Veränderungen im Kontaktgebiet beschrieben (1924).

Es lag uns daran, seine diesbezüglichen Angaben nachzuprüfen. Wir benützten hierzu Material, das vor Inangriffnahme dieser Arbeit bereits vorlag. Dies ermöglichte uns, auch *Perca* etwas intensiver in unseren Vergleich einzubeziehen. Beobachtungen am lebenden Tier liegen aus obigen Gründen nur sehr wenige vor.

*Perca fluviatilis* laicht in unseren Seen im Frühling (April/Mai). Die 200—300 000 Eier eines Laiches haften mit ihren Gallerthüllen derart aneinander, dass sie einen einschichtigen, netzartigen Tubus bilden. Der Durchmesser der Eier, ohne Gallerthülle, beträgt durchschnittlich 1.5 mm.

Berechnung der Embryonalzeit: Unser Laich war ein Wildfang; somit waren uns weder das Befruchtungsdatum noch die Temperaturbedingungen bekannt. Er wurde dann im Laboratorium bei 14° C weiter aufgezogen; die Jungen schlüpften nach 8 Tagen.

Die Zeitangaben in der Literatur streuen sehr stark (von 7 bis 18 Tagen und 80 bis 210 Tagesgraden). Wir haben die Schlüpfstadien unserer Tiere mit den sehr kurzen Angaben und Beschreibungen verschiedener Autoren verglichen und entsprechend für unsere Brut eine 11-tägige Embryonalzeit bei 14° C angenommen.

Berechnung der Postembryonalzeit: Die Angaben der verschiedenen Autoren über die Dauer der Postembryonalzeit differieren sehr stark (einige Tage bis 4 Wochen). Bei CHEVEY (1924, 1925) lässt sich keine Angabe finden. Das letzte Dottersack-Stadium, das er beschreibt, ist der 5. pT mit Eiweissdotter-Resten und einer

kleinen Oelkugel. Dieses Stadium dürfte dem 9. pT unserer Tiere entsprechen. Bei unseren ältesten, den 12-tägigen Tieren wurden stets noch Dotterreste (jedoch keine Oelkugel mehr) beobachtet. Wir schätzen darum das Ende der Dottersackphase auf den 15. pT (14° C).

### *Habitus.*

Am 8. eT (32%) sind die Augen ausgefärbt.

Die Brustflossen beginnen am 10. eT (40%) zu schlagen. Die Dicke der Gallerthülle, die am 1. eT 0,75 mm betrug, ist nun auf 0,18 mm abgesunken.

Am folgenden Tag — 11. eT (44%) — schlüpfen die Tiere. Sie messen 5.0—5.5 mm. Der Kopf ist noch leicht gebeugt. Die Barsche beginnen sofort mit lebhaften Schwimmbewegungen und lassen sich von Zeit zu Zeit auf den Boden sinken. (Fig. 12)

Am 4. pT (56%) beträgt die durchschnittliche Länge 6.6 mm. Der Kopf ist nun gestreckt. Atembewegungen (Maul) setzen ein, und die Futteraufnahme beginnt. CHEVEY (1925) beschreibt, dass die Tiere am Schlüpftag bereits fressen. (Da das Schlüpftatum nach CHEVEY dem 4. pT unserer Tiere entspricht, stimmen die Daten überein.). (Fig. 13)

*Schwimmbblasenfüllung.* — Unsere Versuchstiere wurden in einer niedrigen Schale gehalten, sodass das Erreichen der Wasseroberfläche keine grosse Anstrengung bedeutete. Am 8. pT beobachteten wir das erste Mal eine etwas dilatierete Schwimmbblase. Nur die Hälfte unserer ältesten, also 10—12tägigen Fische, hatten ihre Schwimmbblase gefüllt. Nach SCHINDLER (1934) nehmen die Jungtiere nach einigen Tagen eine horizontale Schwimmstellung ein, was auf eine Schwimmbblasenfüllung hindeutet. CHEVEY (1925) gibt an, dass am 5. pT (entspricht dem 9. pT unserer Skala) der Ductus pneumaticus zu obliterieren beginne.

### *Dottersack.*

*Perca* zeigt am Schlüpftag (44%) einen transparenten, langgestreckten Dottersack, der sich nur wenig vorwölbt und frontal eine grosse Oelkugel enthält. Der Anus liegt eine Strecke hinter dem Dottersackende. Während der Postembryonalzeit wird der sich verkleinernde Dottersack hauptsächlich durch die wachsende Leber auf die rechte Seite verlagert (Fig. 12, 13). In den Spätstadien

(ab 5. pT; 60%) nimmt der Eiweissdotter eine hantelartige Form an: Kurz hinter der Oelkugel verringert er sich zu einem schmalen Strang, der sich caudal der Leber wieder ausbuchtet (Fig. 25).

Der fixierte Eiweissdotter ist am Schlüpftag (44%) kompakt und enthält keine kleinen Oelkugeln. Am 4. pT (56%) erscheint der Eiweissdotter, unabhängig von der Aufarbeitungsmethode, in seiner Konsistenz verändert: er ist in stärkster Auflösung und z. T. fein gekörnt. Der Umbau des Eiweissdotters nimmt im Folgenden weiterhin stark zu, sodass im histologischen Bild das gekörnte Material nur noch einen kleinen Teil des Dottersackvolumens ausfüllt. Die frontale Oelkugel wird später, oder jedenfalls verlangsamt, abgebaut. In der Endresorptionsphase sind nur noch Dotterreste vorhanden; die Oelkugel ist verschwunden. CHEVEY (1924) und SCHINDLER (1934) erwähnen im Gegensatz zu unseren Beobachtungen, dass die Oelkugel zuletzt resorbiert werde. (Fig. 23—25)

*Syncytium.* — In den frühesten Jungtierstadien wird die frontale Oelkugel vom Eiweissdotter durch das Syncytium getrennt (Fig. 23). Am 4. pT (56%), wenn die Auflösung des Dotters begonnen hat, ist die Wand bereits stark verdünnt und später nur noch als feines Plasmahäutchen erkennbar oder ganz verschwunden. CHEVEY (1925) hat diese trennende Wand nicht beobachtet.

Während der Oelkugel-Resorption nimmt das Oelkugelsyncytium an Masse relativ stark zu. Das Syncytium des Eiweissdotters bleibt dort, wo es dem Eiweissdotter unmittelbar anliegt bis in die Endphase eine dünne Schicht, in welcher dann Kern an Kern liegt. Vom 5.—7. pT (60—68%) wird eine basale Syncytium-Längsleiste, die in die Leber eingebettet liegt, beobachtet. Die Verformung der Oelkugelkerne beginnt zeitlich vor derjenigen der Dotterkerne. Letztere machen keine derart exzessiven Aenderungen durch und bilden keine Nester. An der Oelkugel/Dottergrenze treten die Kerne gehäuft, d. h. in Nestern, auf. CHEVEY unterscheidet nicht zwischen Oelkugel- und Eiweissdotter-Syncytium, sowie er auch nur von „vitellus“, und nicht von Oelkugel und Eiweissdotter getrennt, spricht. (Fig. 36—38)

#### *Dottersack-Kreislauf.*

CHEVEY (1925) verweist in seiner ausführlichen Arbeit über *Perca* auf die Angaben von ZIEGLER (1887). Letzterer beschreibt zwei Embryonalstadien: „ein Stadium, wo erst Serum zirkuliert“

und ein späteres „aus der Zeit, wenn schon viele Blutkörperchen sich im Blute befinden“. Angaben über das Kreislaufbild von Schlüpf- und Postembryonalstadien sind uns keine bekannt.

Der Dotterkreislauf wird nur von Lebervenen gespiesen. Das venöse Schwanzblut tritt in den Körper zurück. Die Subintestinalvene nimmt den gleichen Verlauf wie bereits für *Coregonus* beschrieben.

Am 8. eT (32%) ist der Dotterkreislauf angelegt und am Schlüpftag (44%) am ausgeprägtesten. Er beschränkt sich — da die Leber auf der linken Seite liegt — auf diese Dotterhälfte (Fig. 12).

Am 4. pT (56%) hat die Leber die basale Körperwand erreicht; entsprechend werden Blutzellen ventral entlang des Dottersackes beobachtet; auf der rechten von der Leber unbedeckten Seite wurden keine Blutkörperchen angetroffen (Fig. 13).

Vom 5. pT (60%) an hat die Leber die Oelkugel soweit umwachsen, dass das venöse Leberblut der cranialen Oelkugelwand entlang in den Sinus venosus, der nun über dem Atrium liegt, mündet.

Ein ganz ähnliches Kreislaufbild zeigt die Larve (Stadium nicht datiert) von *Acerina cernua*, einem andern Perciden, bei dem das schwache Dottergefässnetz ebenfalls von der Vena hepatica gebildet wird und nur auf der linken Dotterseite liegt (KRYZANOWSKI 1934). Trotzdem stellt dieser Autor in seiner grossen Übersicht sowohl *Perca* als auch *Acerina* unter die Tiere mit „gut entwickeltem Dottersack-Atmungssystem“.

#### *Leber.*

Am Schlüpftag (44%) umgreift die Leber den Dottersack ventralwärts bis etwas über die Mitte. Sie liegt entlang der Oelkugel und berührt den frontalsten Teil des Eiweissdotters auf eine ganz kurze Strecke (Fig. 12, 23).

Am 4. pT (56%) hat die Leber basal die Körperwand erreicht und den sich verkleinernden Dottersack auf die rechte Seite verdrängt. Sie überdeckt nun auf der linken Seite die ganze Oelkugel und liegt dem Eiweissdotter in seinem untersten Drittel und — längs gesehen — dem vordersten Fünftel an. Die weitaus grösste Kontaktzone liegt also entlang der Oelkugel (Fig. 13, 24).

Vom 5.—7. pT (60—68%) hat die Leber die Oelkugel zum grössten Teil umhüllt. Der Eiweissdotter liegt ihr als dünner Strang

auf und erweitert sich caudal wiederum (Hantelform des Dotters). Die Leber umhüllt also bei unseren *Perca*-Jungtieren keineswegs den Dotter in seinen Endphasen, wie es CHEVEY (1924) beschrieben hat. (Fig. 25)

Am Schlüpftag (44%) enthalten die Zellen vereinzelt kleine Vakuolen. Am 5.—7. pT (60—68%) haben die Hohlräume derart an Zahl zugenommen, dass das Cytoplasma im Schnittbild eine wabige Struktur zeigt. (Fig. 36—38)

### *Kontaktgebiet.*

#### 1) *Splanchnopleura.*

CHEVEY (1924) beschreibt, dass die Leber mit dem Dotter in Kontakt kommt, bevor sich die Splanchnopleura dazwischen schieben konnte (s. Einleitung und Fig. 1). Es standen uns keine jüngeren als Schlüpfstadien zur Verfügung. Wir können aber bestätigen, dass zu diesem Zeitpunkt die Leberzellen auf ihrer ganzen Ausbreitung dem Dottersack-Syncytium direkt aufliegen, während das Darmsystem und das Pankreas deutlich durch das Mesothel vom Dottersack abgetrennt sind. Wohl finden sich vereinzelt spindelförmige Zellkerne im Kontaktgebiet; sie können aber meist eindeutig als Gefäßwand von Kapillaren (wenn auch stets blutleeren) erkannt werden (Fig. 36—38).

#### 2) *Andere histologische Veränderungen.*

Nach den Darlegungen von CHEVEY (1924) haben sich am Schlüpftag (4. pT unserer Tiere) die an das Syncytium grenzenden Leberzellen eng an dieses angeschmiegt („soudées“). Der Kontakt sei so stark, dass die Leberzellen direkt — also ohne Membran — in das Protoplasma des Syncytiums übergangen. Hierzu ist zu sagen, dass wohl die Zellen etwas stärker ins Syncytium vorgreifen als in den jüngeren Stadien, dass sie aber eindeutig immer gegen letzteres abgegrenzt bleiben. Das Zellbild, das CHEVEY in seiner Abbildung 2 darstellt (5. pT unserer Tiere) ergibt sich stets, wenn die Leber-Syncytium-Kontaktfläche tangential angeschnitten wird (Fig. 37 b). Die Grenzfläche Leberparenchym/Syncytium wird dadurch unscharf und täuscht einen kontinuierlichen Übergang vor. Schneidet man jedoch dieselbe Stelle in einer anderen Richtung, so wird die Abgrenzung der Plasmen deutlich erkannt (Fig. 37 a).

Des weiteren gibt CHEVEY an, dass sich stets mehrere Leberzellen an der Kontaktgrenze in Teilung befänden. Wir haben jedoch nie eine Anhäufung von Mitosen in diesem Gebiet beobachten können.

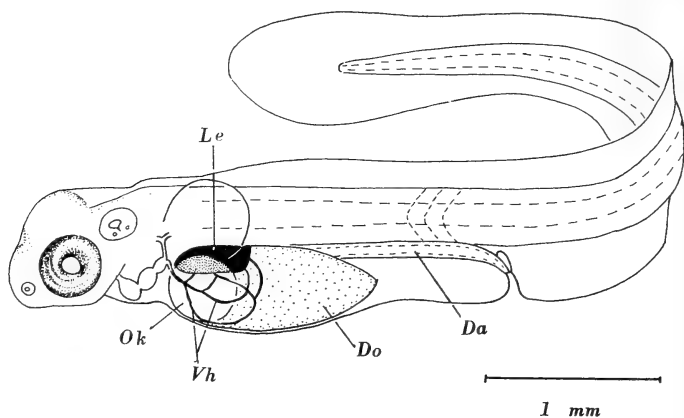


FIG. 12. — *Perca*, Schlüpftag (11. eT).

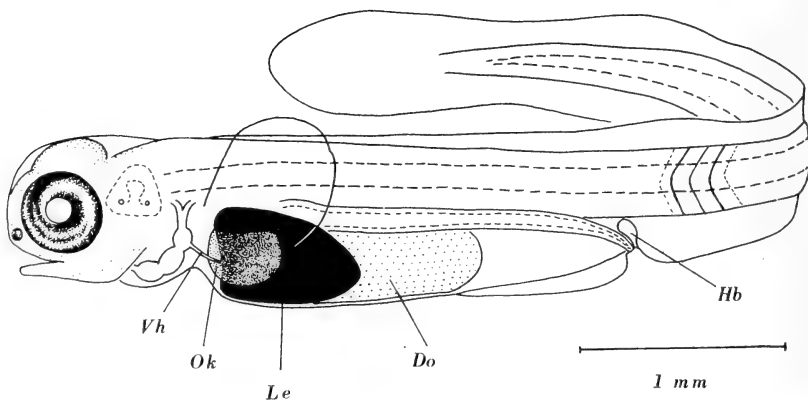


FIG. 13. — *Perca*, 4. pT.

Auch in Bezug auf die Vakuolisierung unterscheiden sich die dem Dottersacksyncytium anliegenden Zellen nach unseren Aufarbeitungsmethoden in keiner Weise von den übrigen.



Die Kontaktfläche Syncytium/Dotter<sup>1</sup> ist, nach CHEVEY, ebenfalls in einem sukzessiven Übergang: „la zone pérblastique (Dotter-sacksyncytium) passe insensiblement au vitellus proprement dit“. In allen unseren Präparaten ist der fixierte Eiweissdotter in diesen Stadien bereits derart aufgelöst, dass er nicht mit dem Syncytium in Kontakt bleibt. Auch werden nie im Syncytium eingebettete Dotterplättchen gefunden, wie wir dies bei den andern hier untersuchten Fischarten angetroffen haben.

Nach CHEVEY ist also von einem gewissen Zeitpunkt an der Übergang Leberzellen - Protoplasma / Syncytium - Protoplasma / Eiweissdotter ein fließender: Das Syncytium segmentiert sich nach aussen in Leberzellen, nach innen hingegen wandelt es den Dotter in eigenes Protoplasma um. Nach unseren Beobachtungen hingegen unterscheidet sich das Kontaktgebiet histologisch in keiner Weise, auch nicht in späteren Entwicklungsphasen.

## V. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

### 1) ENTWICKLUNGSZEIT UND ALLGEMEINE ENTWICKLUNGSABLAUFE

Als Vergleichszeitpunkt zwischen den verschiedenen hier untersuchten Tierarten haben wir den Beginn der Augenpigmentierung, einen plötzlich auftretenden, vom ernährungsphysiologischen Geschehen relativ unabhängigen Vorgang, gewählt. Es ergibt sich, dass dieser Zeitpunkt bei allen unseren Tieren mit der Leberanlage zusammenfällt. Da das Verhältnis Leber: Dottersack im Zentrum unserer Studie steht, ergibt sich damit ein ausgezeichneter Ausgangspunkt für unsere sämtlichen Vergleiche. Wie aus Diagramm I ersichtlich, liegt dieser „Nullpunkt“ bei allen Tierarten um 30% (28—32%).

#### *Dauer der Entwicklungszeit.*

In Tagen gemessen zeigt *Pterophyllum* eine Entwicklungszeit von 10 (27° C), *Perca* von 25 (14° C) *Lebistes* von 36 (22° C) und

<sup>1</sup> In seiner Beschreibung des Leber-Dottersack-Kontaktes spricht CHEVEY nur von „vitellus“ und lässt ganz ausser acht, dass die Leber, wie wir bereits erwähnten, grösstenteils an die Oelkugel grenzt.

*Coregonus* von ca. 100 (8° C)<sup>1</sup>. Vergleicht man die Eigrösse der verschiedenen Arten mit der Entwicklungsdauer in Tagen, so zeigt sich, dass die Entwicklungszeit mit dem Eivolumen ansteigt (Tabelle).

**Schlüpfdatum:** Nach der prozentualen Skala schlüpft *Pterophyllum* bei 20%, *Perca* bei 44%, *Coregonus* bei 60%, *Lebistes* bei 84% (Diagramm I).

**Schlüpfdauer:** Beim Warmwasserfisch *Pterophyllum* schlüpfen die Tiere innerhalb von Stunden. Beim *Perca*-Laich dauerte das Schlüpfen 2 Tage (für die freie Natur werden 8 Tage angegeben (NORDQUIST 1914). Das Schlüpfen der *Coregonen* (gemischtes Laichmaterial aus der Fischzuchtanstalt) erstreckte sich über 10 Tage. Beim tropischen viviparen *Lebistes* wurden die Tiere innerhalb 1—2 Tagen geboren (Befruchtung eines Eisatzes nicht gleichzeitig (TURNER 1937)). Nach unseren Beobachtungen findet das Schlüpfen unmittelbar vor der Geburt statt.

#### *Schlüpfzustand.*

Es ist uns keine Arbeit bekannt, die die Schlüpfzustände oder Postembryonalstadien der Teleostier vergleichsweise behandelt. Allgemein wird lediglich erwähnt, dass es Fische mit und ohne Anheftungsphase gibt.

MARGARETHE GIHR (1957) hat die Entwicklung von *Esox lucius*, einem Fisch mit Anheftungsphase, beschrieben und anhand von äusseren Merkmalen, dem Entwicklungsgrad der Organe und biometrischen Messungen einen ausgezeichneten Gradmesser für Embryonal- und Postembryonalzustände herausgearbeitet. Der Differenzierungsgrad der Augenretina kann ebenfalls zur Charakterisierung von Entwicklungsstufen herangezogen werden. Versuche zeigten, dass beispielsweise bei *Esox* erst am Ende der Anheftungsphase Stäbchen und Zapfen gebildet sind, während bei der Forelle die Retina im Schlüpfmoment schon weitgehend ausdifferenziert ist (NÜESCH 1958; RINGGENBERG 1964).

Der Entwicklungszustand am Schlüpftag weicht bei unseren verschiedenen Arten stark voneinander ab:

*Pterophyllum* haftet nach dem Schlüpfen noch 5 Tage (Anheftungsphase) mit transitorischen Klebedrüsen am Blatt, an dem

<sup>1</sup> Siehe Fussnote p. 459.

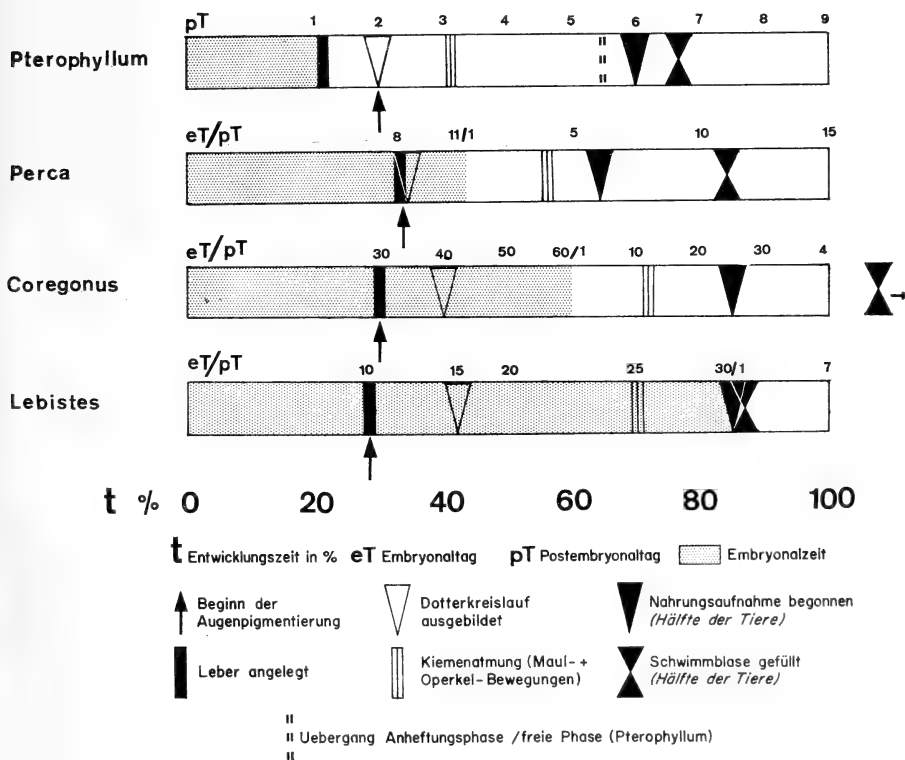
TABELLE

Art	Eidurch- messer mm	a) Embryonalzeit		b) Postembryonalzeit		c) Entwicklungszeit (a + b)		
		Tage	(Tages- grade)	Tage	(Tages- grade)	Tage	Temp. °C	(Tages- grade)
<i>Pterophyllum scalare</i>	1.7 × 1.4	2	(54)	8 (5 + 3) <sup>2</sup>	(216)	10	27	(270)
<i>Perca fluviatilis</i>	1.5	11	(154)	14	(196)	25	14	(350)
<i>Lebistes reticulatus</i>	1.6	30	(660)	6	(132)	36	22	(792)
<i>Coregonus alpinus</i>	2.5	60	(430) <sup>1</sup>	40	(320)	100	8 <sup>1</sup>	(750)

<sup>1</sup> Erster Teil der Embryonalzeit bei < 8° C.<sup>2</sup> Anheftungsphase + freie Phase.

DIAGRAMM I.

Vergleich des relativen Entwicklungsablaufes.



der Laich abgelegt wurde, fest. Erst dann beginnt er zu schwimmen und zu fressen. In der freien Natur soll er während der Postembryonalzeit eine weitgehende Fürsorge durch die Eltern erfahren (MEINKEN; INNES 1945). *Perca* schwimmt sofort nach dem Schlüpfen und nimmt vom 4. pT an Nahrung zu sich. (Schlüpfen die Tiere in einem späteren Entwicklungszustand (s. CHEVEY 1924), so beginnen sie entsprechend früher mit der Nahrungsaufnahme.) *Coregonus* schwimmt ebenfalls bereits am Schlüpftag; nach 25 Tagen beginnen die Fressversuche. Der vivipare *Lebistes* ist am weitesten entwickelt: Er frisst, schwimmt und füllt bereits am ersten Postembryontag seine Schwimmblase (während *Pterophyllum* vom 6. pT an, *Perca* vom 10. pT an ihre Schwimmblase dilatieren und *Coregonus* 10 Tage nach Ende der Entwicklungszeit noch keinerlei Anzeichen einer Füllung aufweist). Im Unterschied zu den andern hier besprochenen Arten, die am Schlüpftag einen protocerken Flossensaum aufweisen, hat *Lebistes* bei der Geburt bereits ausgebildete mit Strahlen versehene mediane Flossen. Seine Körperhaut ist vergleichsweise sehr stark pigmentiert und zeigt im dorsalen Schwanzgebiet bereits Schuppen. (Bei den übrigen Arten wurden selbst am Ende der Postembryonalphase noch keine Schuppen beobachtet.)

Es ergibt sich also für die Schlüpfzustände folgende aufsteigende Reihe

*Pterophyllum* → *Perca*, *Coregonus* → *Lebistes*.

Vergleichen wir die Dauer der Embryonalzeit mit dem Grad des Schlüpfzustandes, so ergibt sich:

Der Fisch mit der relativ (und absolut) kürzesten Embryonalzeit — *Pterophyllum* — ist am Schlüpftag am wenigsten weit entwickelt.

Die Species mit der relativ längsten Embryonalzeit — der vivipare *Lebistes* — weist den fortgeschrittensten Schlüpfzustand auf.

*Perca* und *Coregonus* nehmen eine Mittelstellung ein. Ihr relatives Schlüpfdatum liegt nahe beieinander. Beide sind am Schlüpftag schwimmfähig, gehen aber erst später zur Nahrungsaufnahme und horizontalen Schwimmstellung (Füllung der Schwimmblase) über.

Wir haben oben den Reifegrad der verschiedenen Schlüpfzustände als weit oder wenig fortgeschritten bezeichnet auf Grund 1) der von Art zu Art sehr verschiedenen Schwimmfähigkeit und

2) Fressfähigkeit oder weiterer absoluter Abhängigkeit vom Dotterorgan. Es muss auch berücksichtigt werden, dass *Perca* und *Pterophyllum* Uferlaicher sind und *Lebistes* sich in den Oberflächenschichten aufhält, während *Coregonus* seinen Laich auf dem Seegrund ablegen soll. Sollte es zutreffen, dass sämtliche Teleostier ihre erste Schwimmblasenfüllung mit atmosphärischer Luft vornehmen müssen, so dürfte die sehr späte Schwimmblasendilatation von *Coregonus* wohl mit dem Schlüpfen in der Tiefe zusammenhängen und sollte deshalb nur mit Vorbehalt zu Vergleichszwecken herangezogen werden. Der Beginn der Nahrungsaufnahme setzt wohl die Ausdifferenzierung des Magendarmtrakts, der Sehfähigkeit etc. voraus; er dürfte aber auch entscheidend von der jeweiligen Zusammensetzung des Nährdotters abhängen (s. Abschnitt „Dottersack“).

## 2) DOTTERSACK

### *Lage und Form.*

Vergleichen wir im Zeitpunkt der Augenpigmentierung die Ausdehnung des Dottersackes in Bezug auf die Rumpflänge, so ergibt sich als absteigende Reihe:

*Lebistes* — *Pterophyllum* — *Perca* — *Coregonus*.

Bei allen (ausser *Lebistes*) werden die späteren Formänderungen durch die ursprüngliche Lage und den Wachstumsmodus der Leber bestimmt; die Dotterreste finden sich stets im fronto-dorsalen Lebergebiet.

### *Dotterstruktur.*

*Perca* und *Coregonus* haben eine cranial gelegene grosse Oelkugel, die nur caudal im Dotter eingebettet liegt. *Coregonus* weist zusätzlich im Eiweissdotter Oelkugeln auf. Wir hätten damit der Aufstellung von ZIEGLER (1902) und BERTIN (1958) (p. 453) eine weitere Variante anzugliedern.

*Pterophyllum* hat Oelkugeln im Eiweissdotter verteilt und wenige im Syncytium eingelagert. *Lebistes* hingegen zeigt eine Anhäufung von Oelkugeln im Syncytium und einige wenige Vakuolen im Eiweissdotter.

Zu unserer Bezeichnung „Oelkugel“ bzw. „Oeltropfen“ ist zu sagen: Chemisch wird unterschieden zwischen sog. Oeltropfen und

Dottertropfen (Forelle). Erstere sollen aus Triglycerid-Fetten und letztere aus Phospholipiden und Protein in wässriger Phase bestehen (MATHUR 1949; SMITH 1958). Durch die für unsere Versuche verwendeten Aufarbeitungsmethoden werden sowohl wasser- als auch alkohollösliche Substanzen aus dem Dotter gelöst und hinterlassen Vakuolen. Wir benennen alle diese Hohlräume als „Oelkugeln“ bzw. „Oeltropfen“.

Der fixierte Eiweissdotter ist im Stadium der Augenpigmentierung bei *Coregonus*, *Perca* und *Lebistes* kompakt. Bei *Coregonus* behält er diese Struktur bis in die Endphasen bei; bei *Perca* löst er sich schon sehr bald in Körner auf; bei *Lebistes* zerfällt er später in Schollen. *Pterophyllum* zeigt während der ganzen Entwicklungszeit einen zerklüfteten Eiweissdotter.

Nach BERTIN (1958) erscheint der im fixierten Zustand kompakte Dotter am lebenden Tiere transparent. Dies trifft für *Coregonus* und *Perca* zu. Der Dotter von *Lebistes* ist stets von kleinen Oelkugeln überdeckt, die das Licht brechen; somit kann nicht beurteilt werden, ob er im lebenden Zustand durchsichtig ist oder nicht. Der im fixierten Zustand schollige Eiweissdotter von *Pterophyllum* ist beim Lebenden opak.

#### *Nährmaterial-Resorption.*

Der Vergleich zeigt, dass bei allen unseren Arten das Oel viel später oder jedenfalls viel langsamer aus dem Dottersack verschwindet als der Eiweissdotter. (Wir möchten an dieser Stelle betonen, dass nicht abgeklärt ist, ob und inwieweit Umsetzungen zwischen Oelkugel und Dotter stattfinden.) Zu ähnlichen Ergebnissen führten die Arbeiten von SMITH (1957, 1956), die anhand von chemischen Analysen und calorimetrischen Messungen bei der Forelle zeigen, dass Glycerid-Fette „which constitute the conspicuous oil drop of the teleost yolk-sac“ erst im letzten Drittel der Dottersackphase verbraucht werden, und zwar „in an intense burst of heat production“.

Der Vergleich unserer Fischarten zeigt, dass der Grossteil der Tiere zwischen 65% und 85% der Entwicklungszeit mit der Futteraufnahme beginnt. Wir vermuten, dass das Einsetzen der Fress-tätigkeit nicht von der Quantität sondern ganz entscheidend von der Qualität der Dotterreste abhängt; denn alle Tiere haben in

diesem Zeitpunkt noch einen ansehnlichen Dottervorrat (mehr Oel als Eiweissdotter).

Es ist bekannt, dass Tiere, die „verspätet“ (aber noch während der Dottersackphase) gefüttert werden, sich nicht mehr erholen und zugrundegehen. Man kann daraus schliessen, dass in einem gewissen Stadium bestimmte lebensnotwendige Stoffe aus dem Dotter aufgebraucht sind und nun von aussen zugeführt werden müssen.

Unsere wenigen Parallelversuche scheinen zu zeigen, dass ungefütterte Tiere (*Coregonus* und *Lebistes*) ihren Dotter nicht schneller abbauen als gefütterte. HEIN (1906) kam zum selben Resultat (Forelle). WEBER (1920) gibt an, dass sogar seine gefütterten (kräftigeren und grösseren) Forellen ihren Dottersack schneller resorbierten als die gehungerten Tiere.

Untersuchen wir unsere hungernden Dottersack-Tiere histologisch, so ergibt sich, dass sie — im Gegensatz zu den gefütterten Kontrolltieren — ihr Körperfettgewebe (*Lebistes* im Pankreas) und das Leberglykogen (*Lebistes* und *Coregonus*) vollständig abgebaut haben. Auch HEIN (1906) gibt an, dass seine hungernden Forellen im Gegensatz zu den gefütterten Tieren, kein Fettgewebe (Darm mit Fettleiste) aufweisen. WEBER (1920) beschreibt, dass bei den ungefütterten Forellen die „Fettröpfchen“ aus der Leber verschwinden. Er gibt jedoch in seiner Arbeit die Aufarbeitungs- und Färbemethoden nicht an; wahrscheinlich hat er Vakuolen beobachtet und sie als herausgelöstes Fett interpretiert.

Die Jungfische sind also bei einem gewissen Stand der Dotterresorption — wenn der Eiweissdotter zur Hauptsache resorbiert ist — auf von aussen zugeführte Nahrungsstoffe angewiesen. Sie können von diesem Zeitpunkt an weder ihren weiteren Aufbau noch ihren Betriebs-Stoffwechsel aus dem Dottervorrat genügend bestreiten und müssen auf ihre Körperreserven zurückgreifen.<sup>1</sup> Was kann nun aber die Bedeutung des Dottersackes in seiner Endphase, in der er zur Hauptsache Oel enthält, sein?

Die meisten Autoren schreiben dem Oel hauptsächlich (oder ausschliesslich) hydrostatische Funktionen zu.

<sup>1</sup> In diesem Zusammenhang möchten wir erwähnen, dass z. B. *Heterandria formosa* — ein viviparer Poeciliid, dessen Dotter fast nur aus Oel besteht — nachgewiesenermassen auf Nahrungszufuhr aus dem mütterlichen Kreislauf angewiesen ist (FRASER 1940; SCRIMSHAW 1944 und 1945).

Vergleicht man die Eier der Teleostier anhand ihrer Oeleinschlüsse, so zeigt sich, dass grosse Oelkugeln sowohl bei festsitzenden als auch bei freischwimmenden Eiern vorkommen; sie können also nicht ohne weiteres als Schwebemittel gedeutet werden (PETERS 1947).

Die hydrostatische Bedeutung der Oelkugel in den Postembryonalstadien wurde beschrieben für *Paraclinus* (BREder 1939), für *Macropodus* (PETERS 1947), für *Morone* (JACKMAN 1954) und für verschiedene Labyrinthfische (GILCH 1957). KRYZANOWSKI (1934) behauptet, dass die Bildung von grossen Oelkugeln nur bei den Fischen vorkomme, denen Klebeorgane fehlen. GILCH (1957) hingegen beschreibt verschiedene Labyrinthfische, deren Oelkugeln fast den gesamten Dottersack ausfüllen, die aber gleichzeitig über einfache Haftdrüsen verfügen.

PETERS (1947) glaubt, dass phylogenetisch gesehen ein allmählicher Funktionswandel des Oels — Nährmaterial → Schwebereinrichtung — stattgefunden habe. Diese Entwicklungsrichtung sei bereits angedeutet bei *Perca fluviatilis* (nach SCHINDLER 1935) und *Coregonus* des Neuenburgersees (nach VOGT 1842), bei denen das ursprünglich als Nährmaterial vorhandene Oel bereits zusätzlich in den Dienst des Schwebens (vor Füllung der Schwimmblase) gestellt werde. Verschiedene Arten von Labyrinthfischen nun zeigen nach seiner Meinung bereits eine höher entwickelte Stufe: *Macropodus opercularis* z. B. besitzt zu beiden Seiten des Körpers grosse mit Oel gefüllte Behälter. Versuche zeigten, dass nach operativer Entfernung dieser Oelkugeln den jungen Larven der nötige Auftrieb fehlt, dass die Oelbehälter aber auch noch nach Füllung der Schwimmblase mit dieser zusammen den hydrostatischen Apparat des jungen Fisches darstellen.

Da wir keine solchen Eingriffe vornahmen, können wir die Frage bei unseren Tieren nur indirekt diskutieren:

Unsere Beobachtungen bestätigen, dass bei *Perca* die Schwimmblasenfüllung zeitlich dann einsetzt, wenn die Oelkugel aufgebraucht ist. Die von uns untersuchten *Coregonen* des Thunersees jedoch hatten am Ende der Entwicklungszeit eine stark unterentwickelte, jedenfalls nie dilatierte Schwimmblase. Bei *Pterophyllum* und *Lebistes* werden die kleinen Oelkugeln erst nach der Funktionsfähigkeit der Schwimmblase merklich abgebaut. *Pterophyllum* verbringt die Periode vor der Schwimmblasenfüllung im Anheftungszustand



und *Lebistes* im Mutterkörper, sodass die Oelkugeln bei diesen Tieren wohl kaum hydrostatischen Zwecken dienen.

Vielleicht stellt das Oel ein Dépôt für fettlösliche Vitamine (A, D, E) (und ev. essentielle Fettsäuren) dar, die in dieser fortgeschrittenen Entwicklungsphase zunehmend gebraucht werden (Vitamin A für das sich entwickelnde Sehvermögen — Karotinoide sind im Dotter reichlich vorhanden —, Vitamin D für die nun einsetzende Verknöcherung etc.). Jedenfalls ist bezeichnend, dass die Fette, welche während der der Nahrungsaufnahme vorangehenden Periode verbraucht werden, keine Triglyceride (Oel) sind; es wird vermutet, dass es sich um Phosphatide handelt (SMITH 1957). (Es wäre denkbar, dass dieser Phosphatidverbrauch im ersten Teil der Dottersackphase mit dem Aufbau des Nervensystems zusammenhängt.) Die biochemische Literatur gibt uns nur spärliche Auskunft über die Zusammensetzung des Teleostier-Dotters, insbesondere über die Veränderungen während der Entwicklungsphase (siehe BROWN 1957).

### *Syncytium.*

Bei *Perca* grenzt in den ersten Postembryonaltagen das Syncytium die Oelkugel vom Eiweissdotter ab. Bei *Coregonus* wurde nie eine solche Trennung beobachtet. Bei beiden Tieren verändert sich im Laufe der Entwicklung das Oelkugelsyncytium anders als das Dottersyncytium.

Bei beiden verhalten sich die Oelkugelkerne verschieden von den Eiweissdotter-Kernen. An der Dotter-Oelkugelgrenze treten die Kerne gehäuft auf.

Die Verformungen der Syncytium-Kerne wurden als Amitosen und/oder Degenerationserscheinungen gedeutet und von ZIEGLER (1891, 1902) diskutiert. Er folgerte: 1) die Kerne seien degeneriert, insofern sie keiner mitotischen Teilung mehr fähig seien und sich demzufolge nicht am weiteren Aufbau des Embryo morphologisch beteiligen. 2) Die direkte Teilung hänge damit zusammen, dass sich die Zelle spezialisieren, sich also an eine bestimmte physiologische Funktion (Dotteraufnahme und Verarbeitung) angepasst habe. HAHN (1957) hat in seiner Dissertation „Untersuchungen über das Vorkommen von Amitosen im embryonalen Gewebe“ die gesamte diesbezügliche Literatur aufgearbeitet; keiner der zitierten Autoren seit ZIEGLER hat die Teleostier-Dotterkerne behandelt.

Unsere Beobachtungen bestätigen im ganzen gesehen die Ansicht von ZIEGLER. Es scheint uns aber nicht uninteressant, auf Verschiedenes hinzuweisen: Sicher ist das Dottersyncytium ein zum Untergang bestimmtes transitorisches Gewebe, im Unterschied zur Dottersplanchnopleura, die — wie wir sehen werden — in der Endphase umgebaut wird. Die beobachteten Verformungen der Dotterkerne sind jedoch nicht der Ausdruck einer Pyknose; das Syncytium muss im Gegenteil während der gesteigerten Dotterresorption eine vermehrte Arbeitsleistung bewältigen. Die Modifikationen der Zellkerne, so unterschiedlich und ungesetzmässig sie auch sein mögen, stehen jedenfalls im Dienste einer Oberflächenvergrößerung, welche ihrerseits der Ausdruck eines gesteigerten Stoffwechsels ist. Erst in den allerletzten Stadien verklumpen die Kerne und lassen jegliche Struktur missen. Die Zerlegung der Kerne in zusammenhängende oder auch getrennte Teile würden wir ebenfalls als Amitosen bezeichnen, umsomehr als BENNINGHOFF (1922) und HAHN (1957) unter einem amitotischen Vorgang die Oberflächenvergrößerung mit oder ohne Abschnürung von Kernteilen verstehen.

### 3) DOTTERKREISLAUF

Im Allgemeinen darf wohl die Ansicht als weitgehend gesichert gelten, dass der Dotterkreislauf der Teleostier wesentlich einen Teil des Leber-Portalsystems darstellt. Die Anfangsstadien der Durchblutung sind jedoch ausserordentlich vielgestaltig. Dies erfordert, dass der Dotterkreislauf in seinem ganzen zeitlichen Verlauf in die Vergleiche einbezogen wird.

Vergleichen wir die Blutzufuhr bei unseren Arten, so ergibt sich: *Coregonus* und *Perca* senden nur Leberblut über den Dottersack. Bei *Lebistes* kapillarisiert sich in den Anfangsstadien (28—56%) das gesamte venöse Körperblut auf dem Dottersack. *Pterophyllum* führt ebenfalls anfänglich (20—50%) sein gesamtes venöses Blut über den Dotter; im Gegensatz zu *Lebistes* bilden die Ductus Cuvieri (die das Venenblut aus dem Kopf- und Nierengebiet sammeln) kein Gefässnetz. Bei beiden Tieren nimmt der Anteil des Leberblutes am Dottergefässnetz während der Entwicklung stark zu; in der Endphase stammt das Blut des Dottersackgebietes fast ausschliesslich aus der Leber.

Versuchen wir, unsere Versuchstiere den auf Seite 454 des Allgemeinen Teils angeführten Gruppen zuzuteilen, so erweist sich das Spektrum der Möglichkeiten als reichhaltiger:

*Coregonus und Perca.*

Den zuführenden Gefäßen nach, sind beide Tiere unter den ersten Typus nach PORTMANN einzureihen; sie fallen unter Gruppe 2 nach KRYZANOWSKI, in Bestätigung seiner Angaben.

PORTMANN zeigte in seinen Untersuchungen, dass bei *Cottus*, *Gobius* und *Gasterosteus* (Typus 1) — entgegen allen früheren Beobachtungen an Teleostiern — die Stammvene schon frühembryonal in den Kreislauf eingeschaltet wird. Bis anhin hatte man beobachtet, dass in Frühstadien die Vena caudalis zum After absteigt, als Vena subintestinalis auf den Dotter führt (sog. erster Kreislauf) und erst später ihr Blut in den Rumpf schickt.

Auch bei *Perca* und *Coregonus* setzt sich nach unseren Beobachtungen die Caudalvene schon in den Frühstadien in den Rumpf fort; beide Tiere zeigen also ebenfalls keinen ersten Kreislauf.

*Pterophyllum und Lebistes.*

Vergleichen wir den Ursprung des Dotterkreislaufs, so finden beide Tiere in den Einteilung nach PORTMANN keinen Platz.

KRYZANOWSKI beschreibt eine *Pterophyllum* nahverwandte Form, *Hemichromis*, reiht sie jedoch unter die Fische ohne Dottergefäßnetz ein. *Hemichromis* weist, wie *Pterophyllum*, eine durchblutete „Anal-“ und „Präanalflosse“ auf; die Vena caudalis wird jedoch, sobald sie sich in der Präanalflosse kapillarisiert, vom Autor Vena subintestinalis genannt und das aus dem Darmgebiet auf den Dotter führende Gefäß (die V. subintestinalis) als Arteria mesenterica bezeichnet.

*Lebistes*. — In der Aufstellung von KRYZANOWSKI findet sich ebenfalls ein Poeciliide, *Xiphophorus*; er figuriert unter Gruppe 5 mit Vena subintestinalis, Vena hepatica und Ductus Cuvieri als zuführende Gefäße. Bei *Lebistes* speisen ebenfalls Vena hepatica und Ductus Cuvieri den Dotterkreislauf; statt der Vena subintestinalis haben wir aber die Vena caudalis als zusätzliches Dottergefäß erkannt. Die Abbildung in der Arbeit von KRYZANOWSKI gibt nur die Ventralansicht des *Xiphophorus*-Dotterkreislaufs wieder,

sodass wir nicht entscheiden können, ob nur eine verschiedene Namengebung dieses dritten zuführenden Gefässes vorliegt.

Sowohl bei *Lebistes* als auch bei *Pterophyllum* führt die Vena caudalis zuerst über den Dotter und schickt erst in späteren Stadien ihr Blut in den Rumpf. Beide zeigen also den sog. ersten Kreislauf. Auch die von BORCEA untersuchten Fische, die von PORTMANN unter den zweiten Typus eingereiht werden, zeigen diesen ersten Kreislauf (BORCEA beschreibt nur *Belone* ausführlich, erwähnt jedoch bei den übrigen Formen „gleich wie *Belone*“).

Die Vena caudalis wird jedoch — im Gegensatz zu *Belone* — nicht erst zur Vena subintestinalis, bevor sie auf den Dotter übertritt. (Bei *Lebistes* reicht der Dottersack bis zum Anus, bei *Pterophyllum* fast bis zum After.)

Die Vena subintestinalis führt bei *Lebistes* das venöse Blut aus der Darmgegend frontal in die Leber. Bei *Pterophyllum* fliesst die Vena subintestinalis — von frontal nach caudal — ventral dem Darm entlang und führt, also unter Umgehung der Leber, auf den Dottersack. Erst nach Resorption des Dotters führt die Vena subintestinalis in die Leber.

Vergleichen wir die Intensität der Dotter-Blutversorgung (Ausdehnung, Grad der Kapillarisierung, Blutzellendichte in den Gefässen), so steht *Lebistes* eindeutig an erster Stelle, gefolgt von *Pterophyllum* und *Coregonus*. *Perca* schliesst die Reihe.

Versuchen wir nun, anhand vergleichender Beobachtungen die Atemfunktion des Dottersackkreislaufs abzugrenzen:

#### *Pterophyllum*.

Nachdem am 3. pT (40%) die Atembewegungen eingesetzt haben, verschwindet innerhalb eines Tages (40—50%) die Durchblutung der Analflosse und die rhythmischen Brustflossenbewegungen beginnen. Nach weiteren 24 Stunden (5. pT; 60%: Ende der Anheftungsphase) ist die Präanalflosse grösstenteils abgebaut. Durch Schwanzzittern wird während der ganzen Anheftungsphase eine Wasserströmung erzeugt.

Man darf also die Kapillarnetze von Präanal- und Analflosse als „Atemorgane“ deuten, die mit dem Einsetzen der Kiementätigkeit überflüssig werden. Somit ist das während dieser Periode aus der Vena subintestinalis und der Vena caudalis auf den Dottersack übertretende Blut mit Sauerstoff angereichert, also arteriell.

Während der Anheftungsphase (20—65%) nimmt die Zufuhr von venösem Leberblut auf den Dottersack zu, der Anteil aus Vena caudalis<sup>1</sup> und Vena subintestinalis<sup>2</sup> nimmt ab. Nach Einsetzen der Kiementätigkeit ist also das Dottersackgefässnetz geringer und enthält, da die Kapillarnetze in Präanal- und Analflosse nun wegfallen, zur Hauptsache sauerstoffarmes Blut. Es ist anzunehmen, dass dieses Dotterblut im Dienste der Atmung steht.

#### *Perca.*

Nach Einsetzen der Atembewegungen (60%) scheint sich kein Blut mehr über den Dottersack zu verteilen. Das Gefässnetz ist auf eine schmale Blutbahn reduziert. Der frühe, spärliche Dotterkreislauf scheint zur Hauptsache der Atmung zu dienen.

#### *Coregonus.*

Das Gefässsystem auf dem Dottersack ist am 10. pT (70%), wenn die Atembewegungen einsetzen, bereits stark abgebaut. Durchblutete Kiemenblättchen treten erst vom 25. pT (85%) an in Erscheinung. Die Dottersackatmung wird durch die Kiemenatmung abgelöst.

#### *Lebistes.*

Am 15. eT (42%) ist die Durchblutung des Dottersackes (mit Kapuze) auf ihrem Höhepunkt. 5 Tage später (56%), wenn die Brustflossen bereits schlagen (Strömung im perivitellinen Raum), ist die Vaskularisierung auf dem Dottersack und in der Kapuze bereits stark reduziert. Etwas später (zwischen 56 und 70%) setzen die Atembewegungen ein. In den verbleibenden Tagen bis zum Schlüpfen (84%) wird fast das gesamte Dottergefässnetz abgebaut.

Die eventuelle Funktion des embryonalen Dottersackkreislaufes von *Lebistes* als Aufnahmeorgan für mütterliche Nährstoffe müssen wir unberücksichtigt lassen, da — wie wir sahen — die Frage nicht abgeklärt ist.

Es scheint, dass der Dottersackkreislauf — mit seiner Erweiterung, der Kapuze — zu einem grossen Teil im Dienste der Atmung stehen muss. Es ist bezeichnend, dass die Vaskularisierung stark

<sup>1</sup> Ein Teil des Blutes fliesst zurück in den Rumpf.

<sup>2</sup> Bildet kein Netz mehr, sondern führt in wenigen Gefässen dem ventralen Dottersack entlang herzwärts.

abgenommen hat im Moment, wo die Kiemenatmung tätig ist. Den Kiemen muss der Sauerstoff durch die perivitelline Flüssigkeit, die durch das rhythmische Brustflossenschlagen nun in ständiger Bewegung ist, zugeführt werden.

Die embryonale Harnblase sichert durch ihre fortschreitende Ausdehnung dem Dottersackkreislauf des Embryos einen dauernden engen Kontakt mit der Follikelwand und damit dem mütterlichen Kreislauf.

Aus Obigem geht hervor, dass bei allen von uns untersuchten Arten dem Dottersackkreislauf — neben der Dotterresorption — vor Einsetzen der Kiemenatmung eine entscheidende Rolle als Atemorgan zukommt.

In diesem Sinne kann auch die Tatsache interpretiert werden, dass die beiden Warmwasserfische *Pterophyllum* und *Lebistes* ein viel ausgeprägteres Dotterportalsystem aufweisen als die Kaltwasserfische *Coregonus* und *Perca*. Des weiteren senden *Pterophyllum* und *Lebistes* in der Zeit vor der Kiemenatmung ihr gesamtes Körperblut über den Dottersack (sog. erster Kreislauf). Beide Tiere benötigen jedoch noch zusätzliche Atemflächen (Präanal- und Anal-flosse, bzw. Kapuze).

#### 4) BEZIEHUNG VON LEBER UND DOTTERSACK

##### a) *Leber*.

Im Anlagestadium liegt die Leber bei allen Arten dem Dottersack links auf.

Bei *Pterophyllum* wächst sie im Laufe der Entwicklung ventral- und caudalwärts vor, greift unter dem Enddarm auf die rechte Seite über und hüllt die letzten Eiweissdotter-Reste frontodorsal ein.

Während der Postembryonalphase von *Perca* schiebt die Leber den sich verkleinernden Dottersack auf die rechte Seite. Ihre grösste Kontaktfläche liegt entlang der Oelkugel. In den Endstadien hüllt die Leber die Oelkugel ein; der Eiweissdotter liegt ihr als dünner Strang auf und dehnt sich caudal von ihr wieder aus (Hantelform).

Die Leber von *Coregonus* wird während der Embryonalzeit an das caudale Ende des Dottersackes verlagert. Sie umwächst in der Postembryonalperiode den Eiweissdotter und liegt nach dessen Resorption der Oelkugel bis in die Endphase stets nur caudal an.

Bei *Lebistes* findet keine Umwachsung des Dottersackes durch die Leber statt. Diese liegt bis ans Ende der Embryonalphase dem Dottersack auf, ohne dass sich die Kontaktfläche wesentlich vergrössert. Nach dem Schlüpfen findet sich die Leber in den eingezogenen Dotterresten eingebettet.

Ausser bei *Lebistes* nimmt demnach bei unseren Arten die Kontaktfläche Leber/Dottersack während der Entwicklungszeit stark zu.

**Speicherung.** — Im Stadium 30—40% treten bei den untersuchten Arten stets Vakuolen im Leberparenchym auf, die dann weiterhin an Zahl und/oder Grösse zunehmen. In der Zeit kurz vor der Futteraufnahme sinkt der Grad der Vakuolisierung merkbar ab und bleibt auch in den ersten Fresstadien niedrig. Die Vakuolisierung erreicht auch am Ende der Entwicklungszeit nicht mehr das frühere Ausmass. Wir haben versucht, diese Veränderungen in Diagramm II graphisch darzustellen. Werden die Tiere nicht gefüttert, so verschwinden die Vakuolen vollständig aus dem Zellbild.

Die Studie von POHLMANN (1939) deutet auf eine ähnliche Situation hin. Die „plasmaarmen“ und „plasmareichen“ Zellen, die sie beschreibt, dürften wohl den vakuolisierten bzw. vakuolenfreien Zellen unserer Tiere entsprechen. Sowohl bei *Cichlasoma bimaculatum* als auch bei *C. cutteri* hat die Autorin bereits in Frühstadien („nachdem die Vena portae in die Leber eingedrungen ist“) Plasmaarmut beobachtet. Bei ersterem Tier wird das Parenchym während der Entwicklungszeit wieder plasmareicher; bei letzterem bleibt es „plasmaarm“. *Trichopodus trichopterus* hingegen zeigt während der ganzen Entwicklungszeit das Leberplasma gleichmässig über die Zelle verteilt und erst nach der Dotterresorption (also wenn die Tiere bereits eine Zeit lang fressen) treten „optisch leere, abgerundete Räume“ auf.

Da im fixierten Schnitt alle alkohol- und wasserlöslichen Substanzen herausgelöst sind, müssen die beobachteten Vakuolen von paraplasmatischen Einschlüssen wie Glykogen und Lipoiden herrühren.

Unsere P.A.S.-Färbungen lassen den Schluss zu, dass es sich um Glykogenvorräte handelt, wenn nicht ausschliesslich (Fettfärbungen wurden keine durchgeführt), so doch hauptsächlich:

1) Die Grösse der Hohlräume geht etwa parallel mit dem Volumen der Glykogenkörner: *Coregonus*, *Pterophyllum* und *Lebistes*

mit riesigen Zellvakuolen zeigen überwiegend sehr grosse Glykogenschollen, *Perca* mit dem fein retikulierten Plasma meist feinere, im Plasmaraum verteilte Körner. Wir haben zu wenig Tiere untersucht, als dass wir sichere Einzelheiten über die Art der Glykogenspeicherung angeben könnten.

2) Vor der Futteraufnahme konnte ein Absinken der Glykogenreserven — parallel mit der Abnahme der Vakuolisierung — beobachtet werden. Die verringerte Speicherung dauert auch noch nach Einsetzen des Fressens eine Weile an, parallel mit der verminderten Vakuolisierung.

3) Bei den ungefütterten Tieren (*Lebistes* und *Coregonus*), bei denen die Lebervakuolen vollständig verschwunden sind, zeigt auch der Glykogennachweis durchwegs negative Resultate.

Im Laufe der Diskussion über die Dotterresorption (s. Abschnitt „Dottersack“ p. 487) haben wir gesehen, dass die Jungfische von einem gewissen Stadium der Dottersackphase an auf Futterzufuhr angewiesen sind. Unsere obigen histologischen Beobachtungen bringen eine Ergänzung, zeigen sie doch, dass die Tiere bereits vor Beginn der Fressstätigkeit „hungern“, d. h. ihre Glykogenvorräte angreifen.<sup>1</sup> Des weiteren sehen wir, dass erst einige Zeit nach Beginn der Nahrungsaufnahme die Glykogenspeicherung allmählich wieder zunimmt. Die erheblichen Glykogenreserven in der Leber sind demnach ein Energiereservoir für die Übergangsperiode von Dotternahrung zu Futternahrung.

#### b) *Leber/Dotter-sack-Kontakt.*

Wir haben in der Einleitung die bei Teleostiern beschriebenen Splanchnopleura-Verhältnisse im Kontaktgebiet aufgezählt (Fig. 1).

1) Die Leber wird angelegt, bevor das Coelom in den extra-embryonalen Raum auszuwachsen beginnt. Die Splanchnopleura gleitet in diesem Fall über die Leber hinweg auf den Dottersack. Somit grenzt das Leberparenchym direkt an das grosskernige Dottersacksyncytium = Primärer direkter Kontakt (WILSON 1891; CHEVEY 1924).

<sup>1</sup> Bei *Lebistes* wäre noch zu berücksichtigen, dass nicht abgeklärt ist, ob seine Embryonen Nährstoffe aus dem mütterlichen Kreislauf beziehen.



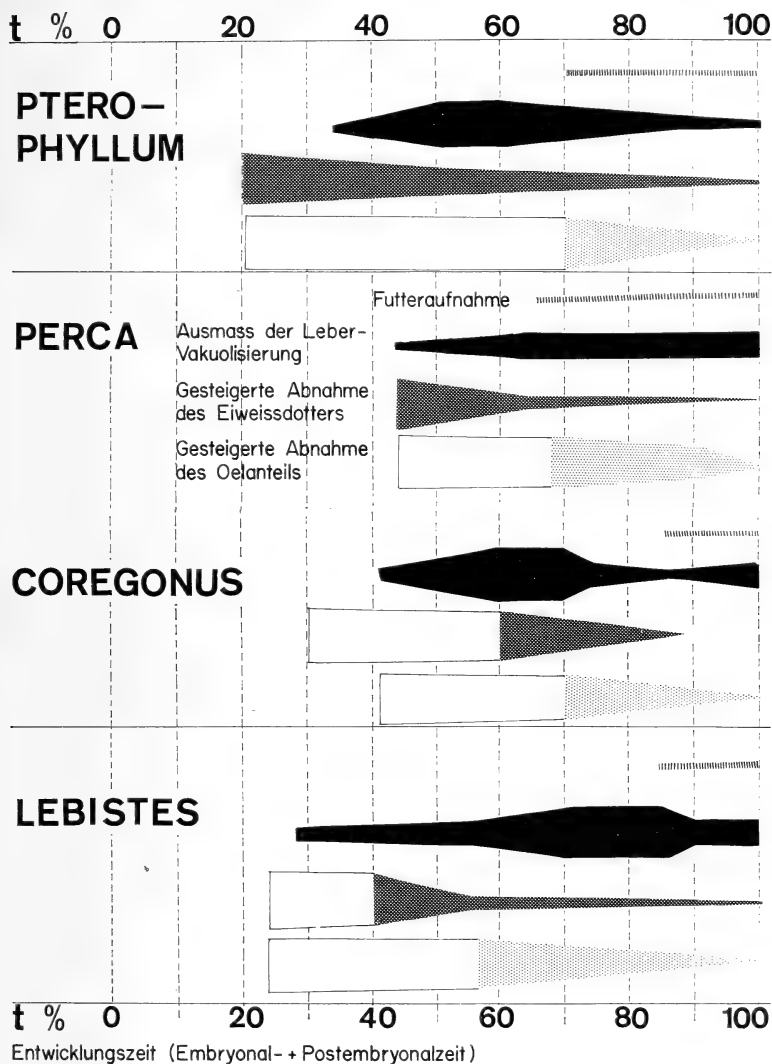


DIAGRAMM II.

Quantitativer Vergleich von Dotterabbau und Vakuolisierung (Glykogenspeicherung) der Leber.

2) Das Mesoderm umwächst den Dottersack, bevor die Leber auftritt. Das Darmsystem mit seinen Anhängen, sowie der Dottersack sind vollständig von der Splanchnopleura umgeben; somit

wird die Leber durch zwei mesotheliale Zellagen — die Dottersacksplanchnopleura und die Lebersplanchnopleura — vom Dottersack getrennt (ZIEGLER 1882; HENNEGUY 1888).

Die weitere Entwicklung kann auf zwei verschiedene Arten vor sich gehen (PORTMANN und METZNER 1929):

a) Es findet keinerlei Reduktion der Splanchnopleuraschichten in der Leber-Dottersack-Kontaktzone statt.

b) Die zwei trennenden Splanchnopleuralagen reduzieren sich auf ein einschichtiges Epithel. Dieses verschwindet im Laufe der Entwicklung vollständig, sodass die Leberzellen nun — wie im Fall 1 — unmittelbar dem Dottersacksyncytium aufliegen = Sekundärer direkter Kontakt.

Unsere Beobachtungen der Postembryonalstadien von *Perca* stimmen mit denjenigen von CHEVEY (1924) überein; im Schlüpfstadium (44%) grenzen die Leberzellen direkt an das Syncytium = primärer direkter Kontakt.

Für *Lebistes*, *Coregonus* und *Pterophyllum* hätten wir obiger Aufstellung eine weitere Variante (2 c) beizufügen:

Die anfänglich doppelschichtige Splanchnopleura reduziert sich auf eine Zellage. Diese bleibt — wenigstens zum grössten Teil — bis zum vollständigen Schwinden des Dottersackes erhalten.

Die Splanchnopleura im Kontaktgebiet ist zwischen Leber und Dottersacksyncytium eingepresst. Man kann sie histologisch als zusammenhängendes Gewebe nur dann verfolgen, wenn bei der Aufarbeitung das Syncytium von der Leber gelöst wurde — was selten geschieht —, und auch dann nur, wenn das Endothel abgerissen ist, d. h. frei im Zwischenraum liegt. Die Kerne der Splanchnopleura färben sich stark an; das sehr dünne Plasma hingegen reagiert nur schwach und nie verschieden vom angrenzenden Plasma des Syncytiums; Zellgrenzen sind keine erkennbar.

Auf das Vorhandensein oder die Abwesenheit der Splanchnopleura im Kontaktgebiet kann also in der Regel nur anhand der beobachteten Kerne geschlossen werden. Es müssen sehr viele Schnitte von mehreren Tieren des gleichen Stadiums durchgemustert werden (mit Oelimmersion!), bis eindeutig entschieden werden kann, ob und wie weit die Splanchnopleuraschichten abgebaut wurden.

Die Splanchnopleura des Eingeweidegebietes passt sich der Grössenveränderung der Organe, die sie einhüllt, an. Dies scheint z. T. durch Veränderungen des Zellvolumens bewerkstelligt zu werden. Jedenfalls sind die Kernabstände in der Splanchnopleura sehr unterschiedlich; im stark verkleinerten Dottersack der letzten Phasen z. B. liegen die Kerne streckenweise einander an. Auch im Kontaktgebiet tritt dieses Phaenomen, wenn auch nicht so ausgeprägt, auf. Fehlen in einem Teil des Kontaktgebietes die Splanchnopleura-Kerne, so können sie bei einem andern Tier gleichen Alters am selben Ort stark vertreten sein. Eine gebietsweise Abwesenheit der Splanchnopleura-Kerne in der Kontaktzone ist also nicht notwendigerweise einem Gewebeabbau gleichzusetzen, es sei denn, man nehme an, dass innerhalb einer Art die Tiere individuell in verschiedenen Kontaktgebieten „Löcher“ in der Splanchnopleura bilden und sie dann wieder schliessen.

Oft erscheint die Leber im Schnittbild fast blutleer. Endothelzellen von kollabierten Kapillaren können daher im Kontaktgebiet mit Splanchnopleura-Zellkernen verwechselt werden.

Die Aussagen über sekundären direkten Kontakt in Arbeiten, die die Leber-Dottersack-Verbindung nur als „Nebenproblem“ behandeln, sind also mit Vorsicht aufzunehmen.

Bei *Pterophyllum*, das bis in die letzten Stadien eine trennende Splanchnopleura besitzt, haben wir die Einwanderung von Chromatophoren in dieses Gebiet beobachtet (Fig. 32). Da die Chromatophoren eine „endotheliale Affinität“ zu haben scheinen (Peritoneum, Blutgefässe etc.) fragen wir uns, ob nicht deren Vorhandensein allein schon auf eine mesotheliale Abgrenzung zwischen Leber und Dottersack schliessen lässt.

Es scheint uns deshalb ungewiss, ob die von POHLMANN (1939) beschriebenen Beobachtungen bei *Trichopodus trichopterus* und *Cichlasoma bimaculatum* wirklich einem sekundären direkten Kontakt entsprechen. Die Autorin erwähnt, dass bei *Cichlasoma*, nachdem die Splanchnopleura vollständig abgebaut ist, „an einigen Stellen ... zwischen den Leberzellen und dem Dottersyncytium Streifen von aneinandergereihten Pigmentkörnern liegen“.

#### *Abbau der Splanchnopleura.*

Bei *Pterophyllum* und *Lebistes* wird beobachtet, wie sich ausserhalb des Kontaktgebietes die Dottersack-Splanchnopleura umwan-

delt und Zellen ins Coelom abgibt (Fig. 39). Bei *Perca* liegt die Splanchnopleura des Dottersackes in ihrer ganzen Ausdehnung anderen Geweben an, sodass ihr Um- bzw. Abbau schwer zu beobachten ist. Im Coelom von *Coregonus* können wohl, wenn auch spärlich, freie Zellen beobachtet werden. Der sehr langsame Dotterabbau dieses Tieres erschwert eine eindeutige Aussage über ihre Herkunft.

Es wäre interessant abzuklären, ob und inwieweit das „überflüssig“ gewordene Dottersackmesothel noch andere Umwandlungen erfährt. Es wäre denkbar, dass es zur Gefäss- und Blutbildung herangezogen würde. In diesem Zusammenhang seien die Arbeiten von COLLE-VANDEVELDE (1961, 1962) erwähnt, in denen ausgesagt wird, dass bei *Lebistes* und *Pterophyllum* — entgegen der klassischen Theorie für Teleostier — die ersten Blutinseln auf dem Dottersack entstehen. Morphologische und histochemische Untersuchungen an *Lebistes* zeigten, dass die Differenzierung des Blutes während der Epibolie im Umwachsungsrand beginnt. Bei *Pterophyllum* wurden histologisch die ersten Blutzellen erst nachgewiesen, als der Blastoporus praktisch geschlossen war. Sie finden sich um den Terminalknoten gruppiert.

Im Kontaktgebiet wird die doppelte Zellage bereits in den ersten Tagen nach der Leberanlage auf eine Schicht vermindert, und diese Reduktion schreitet mit dem Vorwachsen der Leber entsprechend fort. Nachdem wir die oben beschriebenen Phaenomene der Abkapselung von Zellen entlang der Leber-Dottersackgrenze nicht angetroffen haben, scheint es uns möglich, dass diese Splanchnopleurazellen für die Gefässbildung in der Leber herangezogen werden. Zahlreiche Beobachtungen von spindelförmigen Kernen, die aus dem Kontaktgebiet teilweise ins Parenchym ragen, könnten für diese Annahme sprechen. Auch die von PORTMANN und METZNER (1929) und auch von uns gemachten Beobachtungen, dass die Lebergefäße oft ohne sichtbare Endothelwand auf den Dotter münden, könnten damit eine Erklärung finden. Vielleicht ist der von PORTMANN und METZNER beschriebene vollständige Abbau der Splanchnopleura ein Ausdruck dafür, dass während der langen Dottersackzeit ihrer Tiere sämtliches Splanchnopleuramaterial im Kontaktgebiet laufend für die Gefässbildung in der Leber benötigt wird.

Wenn auch bei *Coregonus*, *Pterophyllum* und *Lebistes* die Splanchnopleura im Kontaktgebiet bis in die Endphase der Entwicklungs-

zeit erhalten bleibt, so ist doch die Verbindung zwischen Leberparenchym und Dottersacksyncytium weit „inniger“ als zwischen dem Dotter und anderen aufliegenden Organen. So erlaubt die bloss einschichtige Splanchnopleura ein zahnartiges Vorstossen von Leberzellgruppen in den Dottersack, während z. B. die Kontaktfläche von Pankreas und Dottersyncytium vergleichsweise glatt bleibt. Leber und Syncytium müssen sich in die Splanchnopleura „teilen“. Schrumpft durch die histologische Aufarbeitung der Dotter oder wird die Leber abgelöst, so bleibt, hauptsächlich in den Endstadien, die dazwischenliegende Splanchnopleura in der Regel an keinem der beiden Organe hängen, sondern zerreißt. Wird bei lebenden, narkotisierten *Coregonen* der Dottersack entfernt, so haftet die Leber diesem stets an. Bei *Lebistes* jedoch, wo die Berührungsfläche klein bleibt, kann die Leber leicht abgelöst werden.

#### *Weitere histologische Beobachtungen im Kontaktgebiet.*

In verschiedenen Arbeiten über den direkten Leber-Dottersack-Kontakt wurden weitere histologische Besonderheiten im Kontaktgebiet beschrieben, die wir durch eigene Beobachtungen ergänzen können:

So beobachtet WILSON (1891), wie bei *Serranus atrarius* das Dottersacksyncytium; das früher als dünne Schicht den Dotter umgab, nun den Dotter durchziehe. Ferner hätten sich die Dotterkerne (seine „Periblastkerne“) derart verändert, dass zwischen ihnen und den Leberzellen nur noch ein kleiner Unterschied bestehe; die ersteren seien ferner nicht länger auf die Peripherie des Dotters beschränkt. Des weiteren beobachtete er: „the outlines of the liver cells adjacent to the yolk can not be made out“.

CHEVEY (1924) bestätigte bei *Perca*, dass sich das ehemals dünne Dottersyncytium zu verdicken beginne. Des weiteren beschreibt er den innigen Kontakt des Syncytiums (périblaste) einerseits mit den Leberzellen, anderseits mit dem Dotter. Die Leberzellen seien „sans cloison et librement ouvertes“ gegen das Syncytium zu. Auf der entgegengesetzten Seite gehe die Syncytiumzone „insensiblement“ in den eigentlichen Dotter über. Weiterhin beobachtete er; dass stets mehrere der gegen das Syncytium offenen Leberzellen in Mitose seien.

Auch PORTMANN und METZNER (1929) wiesen einen innigen Kontakt zwischen Leberzellen und angrenzendem Syncytium nach

(beim Lachs ausgeprägter als beim Hecht). Bei *Salmo* münden auch die Blutkapillaren der Leber frei, d. h. ohne Endothel, in das Syncytium.

Es lag nahe, diesen morphologischen Beobachtungen eine physiologische Deutung zu geben und in der Folge die Leber als Dotterresorptionsorgan aufzufassen.

So gelangt WILSON (1891) zur Schlussfolgerung: „...it is very evident that the liver is absorbing the yolk and periblastic protoplasm“.

Auch CHEVEY (1924) folgert (p. 140) „le foie joue donc un rôle embryonnaire transitoire bien spécial, rôle de résorption du vitellus“.

PORTMANN und METZNER (1929) betonen in ihrer Arbeit abschliessend, dass sie die physiologische Seite des Dotterproblems übergangen hätten, und — indem sie ihre Resultate mit denjenigen von CHEVEY verglichen — „so bedeutend wie beim Barsch wird die Rolle der Leber in den von uns untersuchten Fällen nicht. Aber auch die Larven von Hecht und Lachs zeigen längere Zeit einen engen Leber-Dotterkontakt, dessen Bedeutung für die Dotterresorption sicher nicht gering ist“.

Vergleichen wir nun unsere eigenen Beobachtungen im Leber-Dottersack-Kontaktgebiet mit den Resultaten der obigen Autoren, so ergibt sich ein Bild, das von den eben erwähnten Interpretationen stark abweicht.

Auch die Schnitte unserer Tiere zeigen, dass sich das Syncytium im Laufe der Entwicklung stark verbreitert (s. Abschnitt Dottersack). Diese „Massenzunahme“ ist jedoch nur eine relative, und auf den vergleichsweise schnelleren Abbau des übrigen Dottersackinhaltes zurückzuführen; sie ist keineswegs auf die Leber-Dottersack-Grenze beschränkt.

Bei *Pterophyllum*, *Coregonus* und besonders bei *Lebistes* kann man die Dotterpassage durch das Syncytium beobachten. In den Anfangsstadien liegen wenige Dotterkugeln im Syncytium. Wenn im Verlaufe der Postembryonalphase der Dotter stark ab- und das Syncytium relativ zunimmt, werden mehr und mehr Dotterschollen im Syncytium eingebettet. Dies dürfte das Bild sein — jedoch mit einer anderen Interpretation — das CHEVEY das „Hineindiffundieren“ des Syncytiums nennt. Dieses Phaenomen kann auf der gesamten Dottersackoberfläche verfolgt werden; auch ist es keinesfalls ausgeprägter im Leber-Dotter-Kontaktgebiet. Bei *Lebistes* ist

im Gegenteil die Beladung des Syncytiums mit Dotterschollen und Oelkugeln im dorsalen Gebiet — also dort, wo der Dottersack an die Eingeweide (Leber) grenzt — stark vermindert im Vergleich zur übrigen Dottersackoberfläche.

Alle anderen von uns beobachteten Veränderungen, die mit dem Dotterabbau in Beziehung stehen, finden sich im Kapitel „Dottersack“. Nie sind sie auf die Leber-Dottersack-Kontaktfläche beschränkt oder dort ausgeprägter.

Wie im nämlichen Kapitel ausführlich beschrieben, machen die Dotterkerne auch bei unseren Tieren tiefgreifende Veränderungen durch. In keinem Fall jedoch erlangen sie eine Aehnlichkeit mit den Leberzellen, wie WILSON es angibt.

Die Leberzellen entlang der Dottersack-Leber-Kontaktfläche unterscheiden sich — nach unseren Aufarbeitungs- und Färbemethoden — bei keiner der von uns untersuchten Tierarten, in keinem Entwicklungsstadium vom übrigen Leberparenchym. Auch die Mitosenhäufigkeit an dieser Stelle, die von CHEVEY betont wurde, konnten wir weder bei der von ihm beschriebenen *Perca* noch bei den anderen Arten bestätigen.

Nach unseren Beobachtungen (s. Kapitel „Leber“) nehmen die paraplasmatischen Einschlüsse während der Dotterresorptionsphase stark an Umfang und/oder Zahl zu und gegen den Zeitpunkt des Beginns der Futteraufnahme (relativer Hungerzustand) wiederum ab. Dieses Phaenomen verteilt sich jedoch gleichmässig über die Drüse; die dotternahen Leberzellen zeichnen sich in keiner Weise aus.

Bei *Lebistes*, *Coregonus* und *Pterophyllum* können sich, da die Splanchnopleura erhalten bleibt, die Leberzellen nicht gegen den Dottersack „öffnen“. Auch unsere Nachuntersuchungen an *Perca* — Tier mit primärem, direktem Leber-Dottersack-Kontakt — ergaben, dass sich stets das Lebercytoplasma vom angrenzenden Syncytiumplasma unterscheiden lässt (Fig. 37 a). Der von CHEVEY an *Perca* beschriebene langsame Übergang von Leber- zu Syncytiumplasma beruht auf einer falschen Interpretation der Schnittbilder (s. p. 481).

Anhand unserer histologischen Beobachtungen können wir also bei keiner der von uns untersuchten Tierart — auch nicht bei *Perca* mit dem direkten Leber-Dottersack-Kontakt — folgern, dass die Leber den Dotter resorbiere. Auch die Veränderungen des

Dottergefäßsystems lassen keinen entsprechenden Schluss zu: Eine gesteigerte Abnahme der Vaskularisierung des Dottersackes überdeckt sich stets — wie wir sahen — zeitlich mit dem Beginn der Kiemenatmung. Der Dotterkreislauf bleibt aber bis in die letzten Resorptionsphasen erhalten. Nur bei *Perca* scheint es, dass bei noch reichlichem Dottervorrat der Dotterkreislauf fast ganz verschwindet. Wohl ist, wie wir oben zeigten, bei allen unseren Arten ausser *Lebistes* der Leber-Dottersack-Kontakt sehr innig; auch vermehrt sich die Kontaktfläche im Verlaufe der Entwicklung sehr stark; aus diesen Resultaten allein können aber keine Hypothesen aufgestellt werden. Ob bei unseren Tierarten im Leber-Dotter-Kontaktgebiet ein chemischer Austausch stattfindet — sei es nun eine direkte Resorption von Dottermaterial oder, was wir eher vermuten, eine Abgabe von proteolytischen oder fettabbauenden Fermenten durch die Leber — können nur neue Untersuchungen abklären.

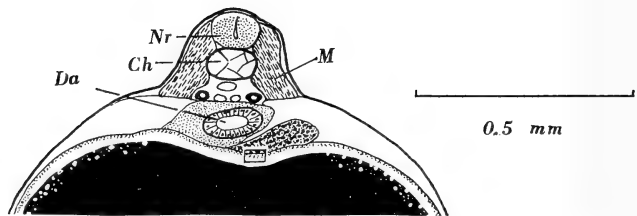


FIG. 14.

*Coregonus*, 30. eT, Querschnitt. □ Ausschnitt Fig. 26.



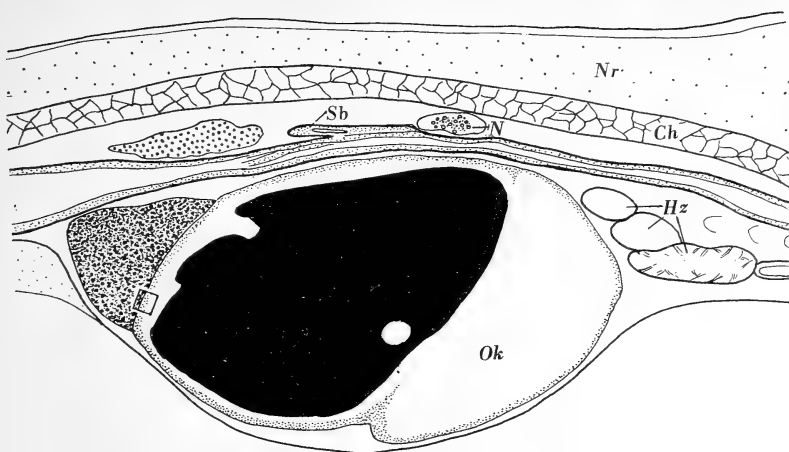


FIG. 15.

*Coregonus*, Schlüpftag (60. eT), Sagittalschnitt. □ Ausschnitt Fig. 27.

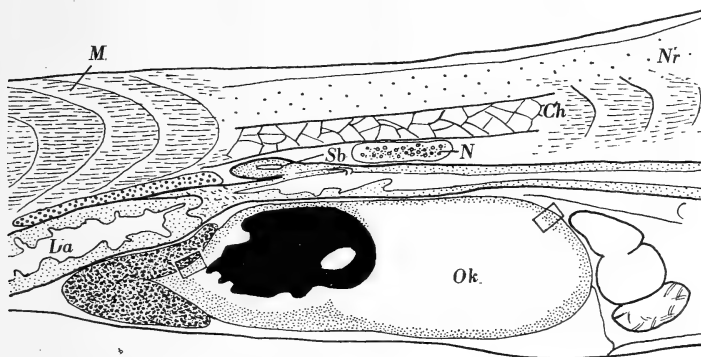


FIG. 16.

*Coregonus*, 15. pT, Sagittalschnitt. □ Ausschnitte Fig. 28 a und Fig. 28 b.

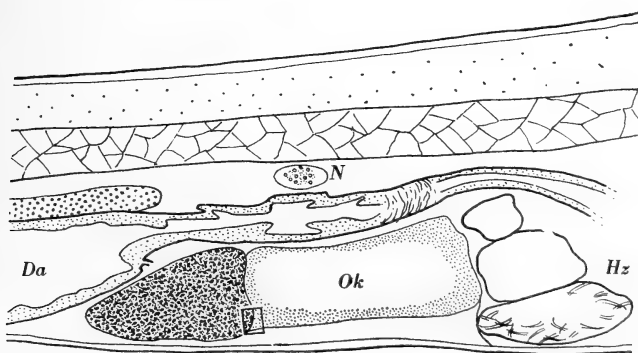


Fig. 17.

*Coregonus*, 25. pT, Sagittalschnitt. □ Ausschnitt Fig. 29 a.

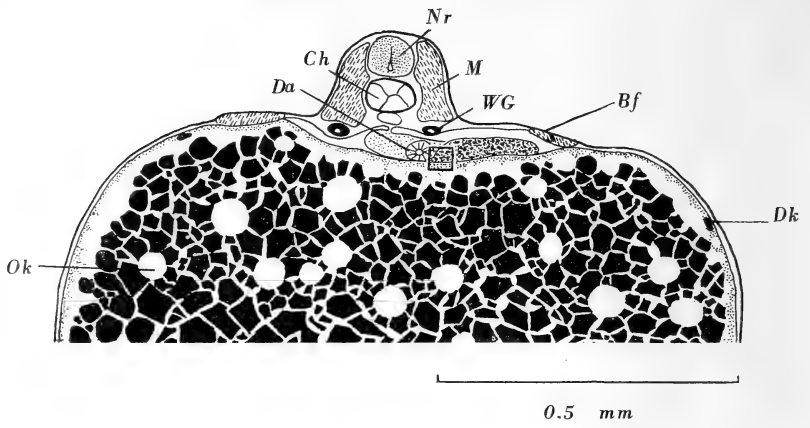


FIG. 18.

*Pterophyllum*, Schlüpfstag (2. eT), Querschnitt. □ Ausschnitt Fig. 30.

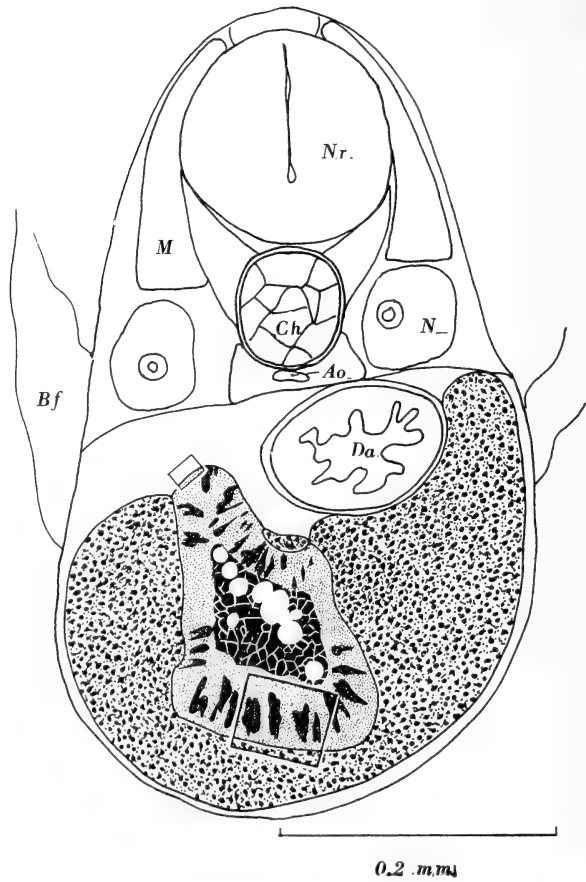


FIG. 19.

*Pterophyllum*, 8. pT, Querschnitt. □ Ausschnitte Fig. 32 und Fig. 39.

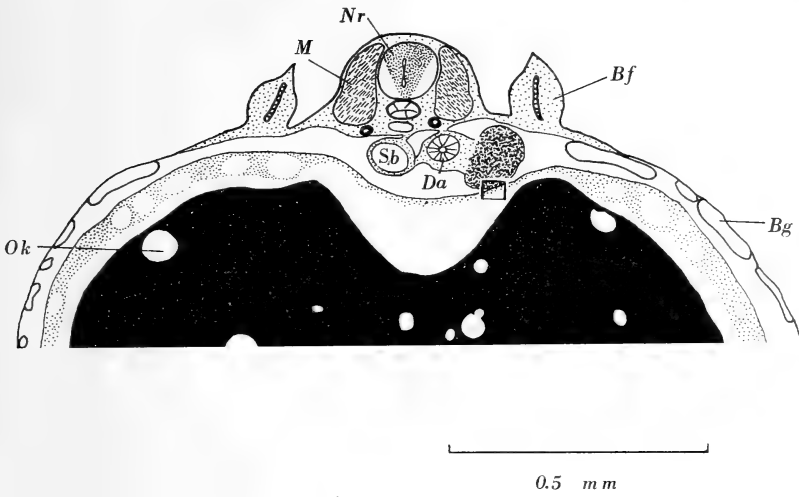


FIG. 20.

*Lebistes*, 10. eT, Querschnitt. □ Ausschnitt Fig. 33.

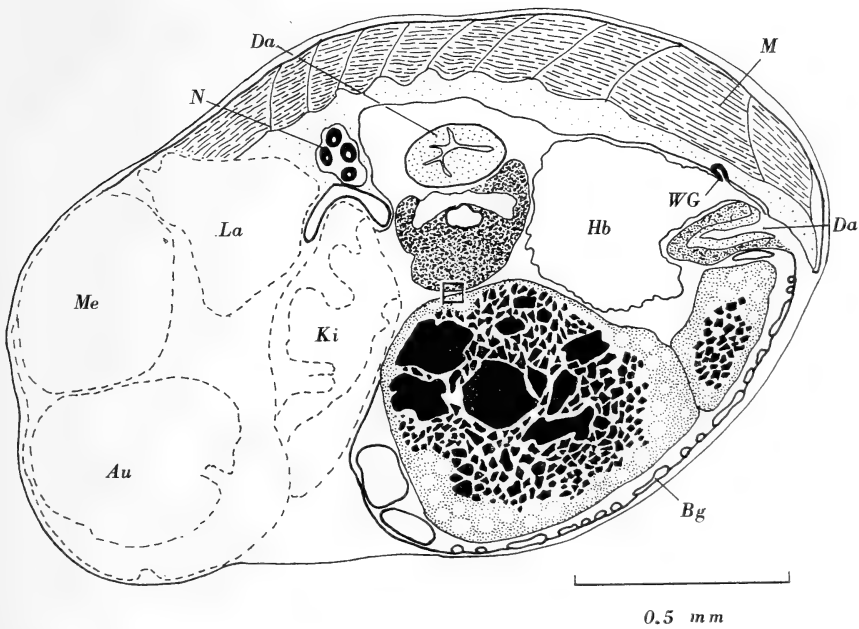


FIG. 21.

*Lebistes*, 25. eT (in Eihülle), Sagittalschnitt. □ Ausschnitt Fig. 34 (30. eT).

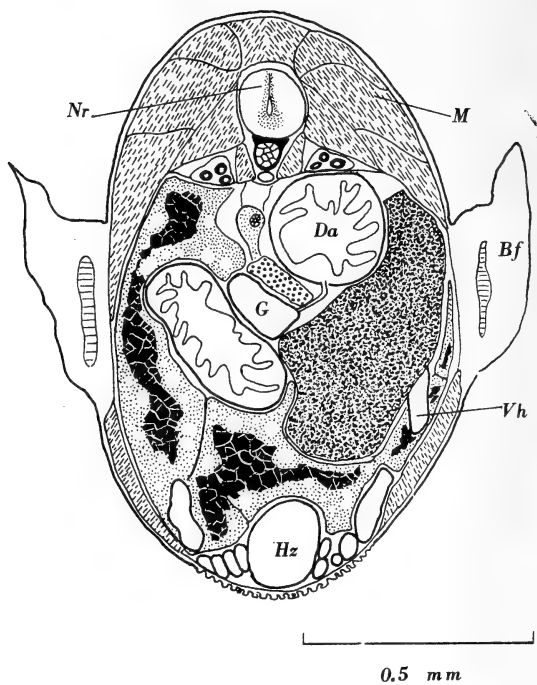


FIG. 22.

*Leibes*, Schlüpfstag (30. eT), Querschnitt.

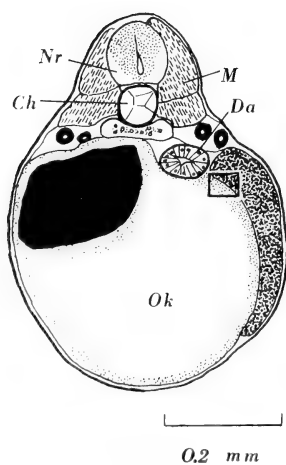
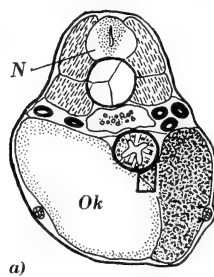


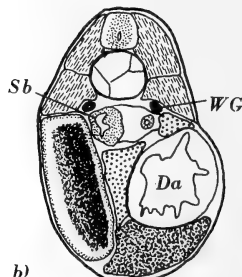
FIG. 23.

*Perca*, Schlüpfstag (11. eT),  
Querschnitt.

□ Ausschnitt Fig. 36.



a)



b)

FIG. 24.

*Perca*, 4. pT (Querschnitte).

a) Oolkugel-Region;

b) Eiweissdotter-Region (caudal von a.)

□ Ausschnitt Fig. 37 a.

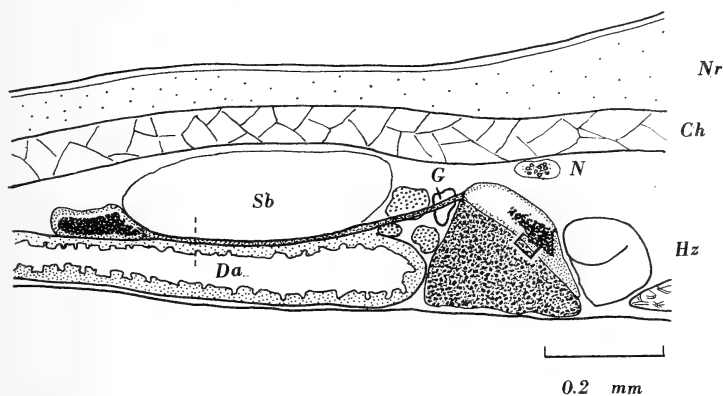


FIG. 25.

*Perca*, 10. pT, Sagittalschnitt.

Mittelstrang des hantelförmigen Dotters auf Sagittalebene projiziert.

□ Ausschnitt Fig. 38 a; - - - - Schnitttrichtung Fig. 38 b.

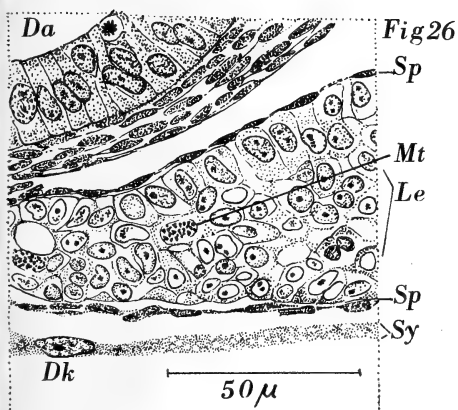


FIG. 26.

*Coregonus*, 30. eT,

Détailzeichnung aus Fig. 14.

Splanchnopleura im Kontaktgebiet meist noch doppelt.

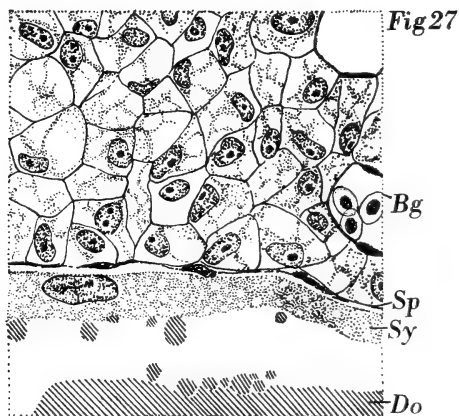


FIG. 27.

*Coregonus*, Schlüpftag (60. eT),

Détailzeichnung aus Fig. 15.

Splanchnopleura einschichtig.  
Leberzellen stärkstens vakuolisiert.

Fig 28 a

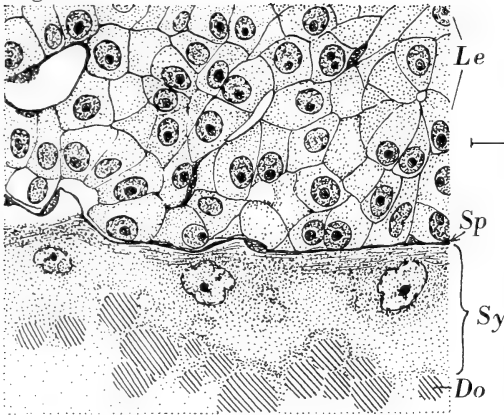


Fig 28 b

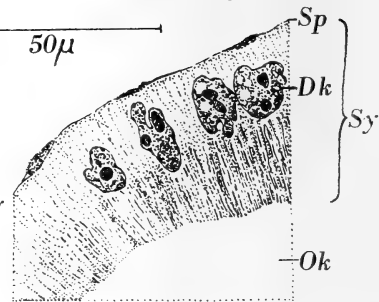


Fig 29 a

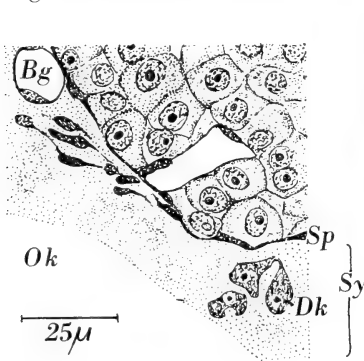


Fig 29 b

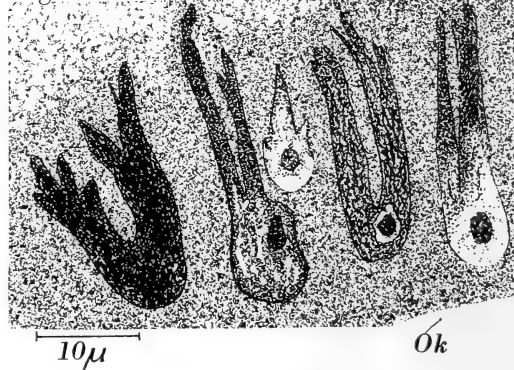


FIG. 28.

*Coregonus*, 15. pT. Détailzeichnung aus Fig. 16.

- a) Splanchnopleura einschichtig. Vakuolen in Leberzellen vermindert.
- b) Struktur des Oelkugel-Syncytiums.

FIG. 29.

*Coregonus*, 25. pT. Détailzeichnung aus Fig. 17.

- a) Kontaktzone mit Blutgefäßen und Bindegewebe. Vakuolen in Leberzellen verschwunden.
- b) Kometenförmige Kerne im Oelkugel-Syncytium, „Köpfe“ gegen das Zentrum weisend.

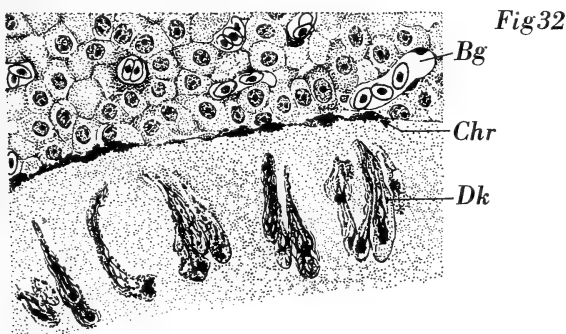
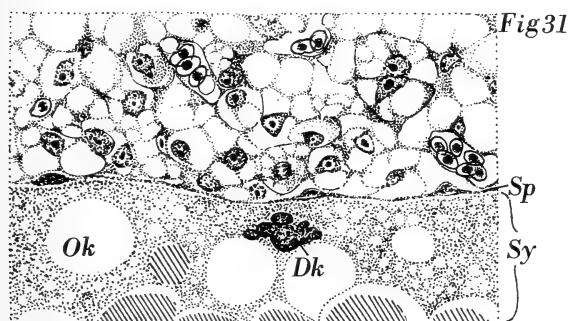
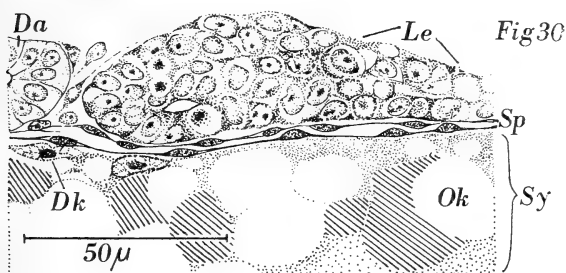


FIG. 30.

*Pterophyllum*, Schlüpftag (2. eT), Détailzeichnung aus Fig. 18.  
Splanchnopleura im Kontaktgebiet doppelt.

FIG. 31.

*Pterophyllum*, 4. pT.  
Splanchnopleura einschichtig. Leberzellen stark vakuolisiert.

FIG. 32.

*Pterophyllum*, 8. pT, Détailzeichnung aus Fig. 19.  
Chromatophoren im Kontaktgebiet. Nur noch vereinzelt Vakuolen in den  
Leberzellen. Kometenförmige, radial gerichtete Dotterkerne.

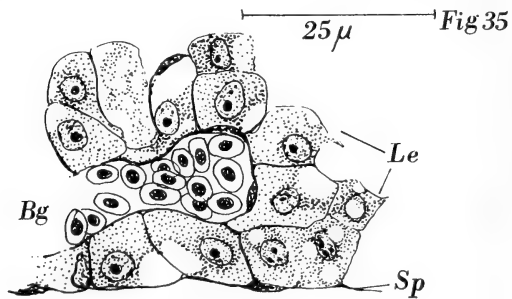
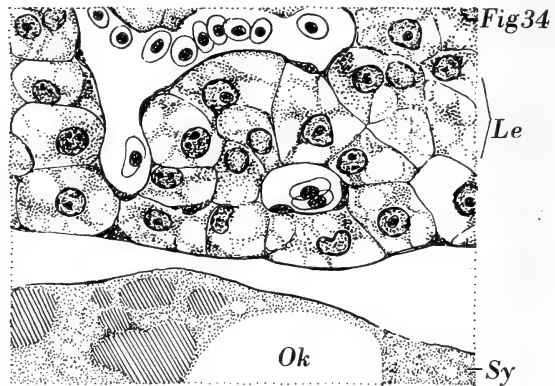
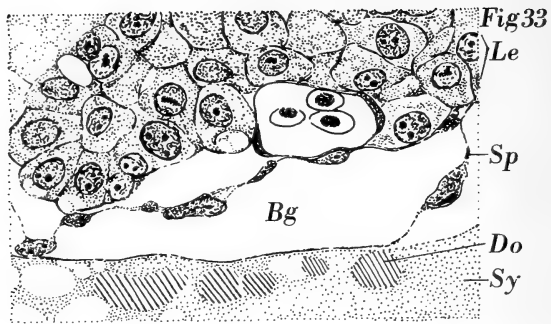


FIG. 33.

*Lebistes*, 10. eT, Détailzeichnung aus Fig. 20.  
Splanchnopleura im Kontaktgebiet z. T. noch doppelt.  
In den Leberzellen bereits vereinzelt Vakuolen.

FIG. 34.

*Lebistes*, 30. eT, Détailzeichnung aus Fig. 21.  
Splanchnopleura einschichtig. Leberzellen stark vakuolisiert.

FIG. 35.

*Lebistes*, 5. pT.  
Splanchnopleura einschichtig. Leberzellen noch leicht vakuolisiert.



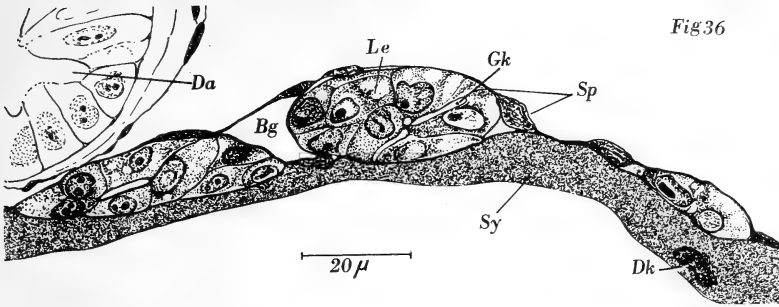


Fig 36

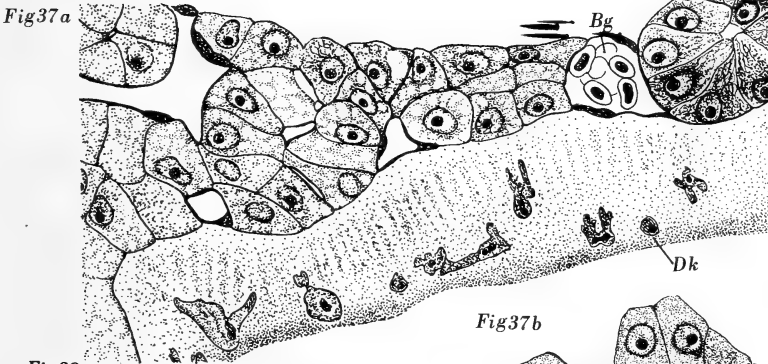


Fig 37a

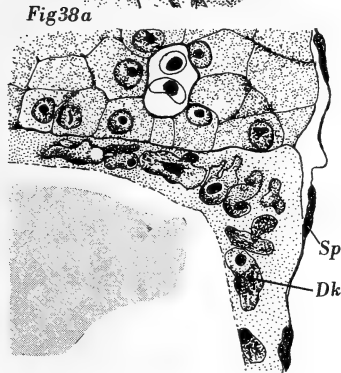


Fig 38a

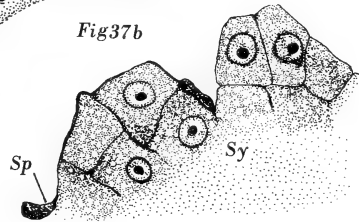


Fig 37b

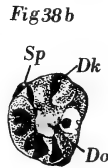


Fig 38b

FIG. 36.

*Perca*, 1. pT, Détailzeichnung aus Fig. 23.  
Keine Splanchnopleura im Kontaktgebiet.  
Vereinzelte Vakuolen in den Leberzellen.

FIG. 37.

*Perca*, 4. pT.

- a) Détailzeichnung aus Fig. 24 a. Keine Splanchnopleura im Kontaktgebiet. Leberzellen stark vakuolisiert.
- b) gleiche Region wie a), Kontaktgebiet jedoch tangential geschnitten.

FIG. 38.

*Perca*, 10. pT, Détailzeichnungen aus Fig. 25.

- a) Keine Splanchnopleura im Kontaktgebiet. Leberzellen mit vielen kleinen Vakuolen. Im Syncytium Dotterkern an Dotterkern.
- b) Quergeschnittener Mittelstrang des Dotters. Syncytium mit Kernen angefüllt.

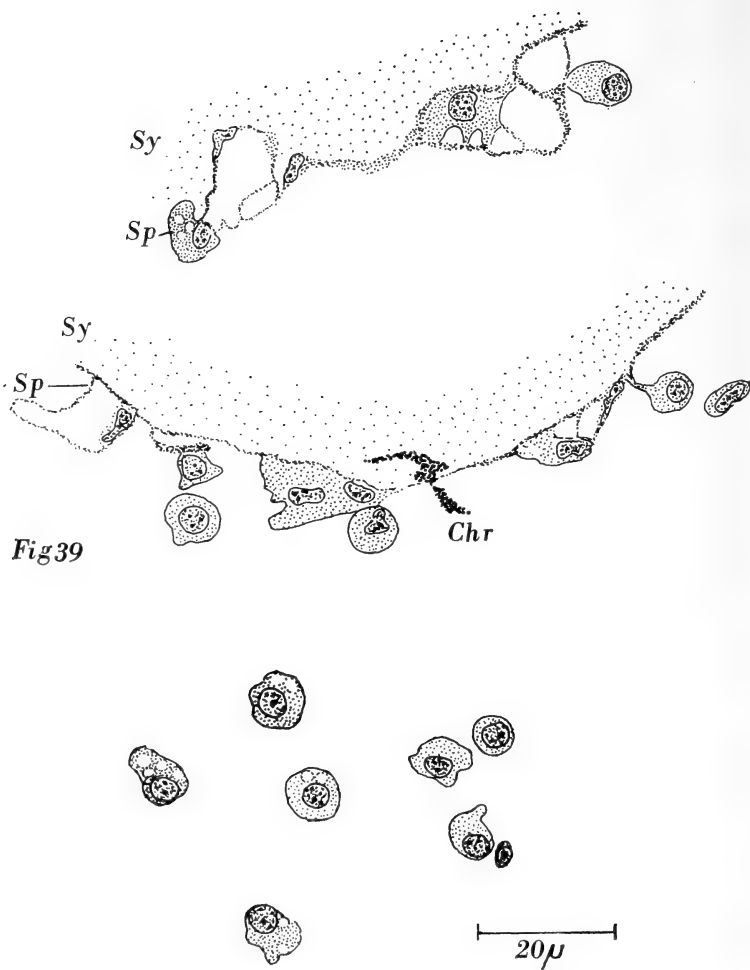






Fig 39

FIG. 39.

Abbau der Splanchnopleura bei *Pterophyllum* (8. pT),  
 Lage der Schnitte s. Fig. 19 ☐.  
*oben und Mitte*: Ablösung aus dem Zellverband;  
*unten*: freie Zellen.

Bedeutung der Signaturen auf Fig. 14 - Fig. 25:

	Eiweissdotter mit		Syncytium
	Leber		Pankreas

*Verzeichnis der Abkürzungen auf den Figuren.*

A	Atrium	La	Labyrinth
Af	Anal-flosse	Le	Leber
Am	Arteria mesenterica	M	Muskeln
Ao	Aorta	Me	Mesencephalon
Au	Auge	Mi	Milz
Ba	Bauchflossenanlage	Mt	Mitose
Bf	Brustflosse, bzw. -anlage	N	Niere
Bg	Blutgefäß	Nr	Neuralrohr
Ch	Chorda	Ok	Oelkugel
Chr	Chromatophor	Pf	Präanalflosse
Da	Darm	Sb	Schwimmbläse
DC	Ductus Cuvieri	Sf	Schwanzflosse
Dk	Dotterkern	So	Somatopleura
Do	Dotter	Sp	Splanchnopleura
G	Gallenblase	Sv	Sinus venosus
Gk	Gallenkapillare	Sy	Syncytium
Hb	Harnblase	V	Ventrikel
Hd	Haftdrüse	Vc	Vena caudalis
Hz	Herz	Vca	Vena cardinalis anterior
K	Kapuze	Vcp	Vena cardinalis posterior
Ka	Kiemenarterie	Vh	Vena hepatica
Ki	Kiemen	Vs	Vena subintestinalis
		WG	Wolff'scher Gang

## ZUSAMMENFASSUNG

Die Arbeit beschreibt und vergleicht die Entwicklungsabläufe während der Dottersackphase von *Coregonus alpinus*, *Pterophyllum scalare*, *Lebistes reticulatus* und *Perca fluviatilis*.

Dabei wurden die folgenden Organe besonders berücksichtigt:

1) Dottersack. Seine Beziehungen zum Jungtier, bzw. Embryo und seine Struktur — speziell das Verhältnis zwischen Oel und Dotter, das Syncytium, die Splanchnopleura — wurden behandelt. Dabei ergab sich:

- a) Das Oel verschwindet später, oder jedenfalls langsamer, als der visköse Dotter aus dem Dottersack. Die Funktion der Oelkugel wird diskutiert.
- b) Die Futteraufnahme setzt geraume Zeit vor Ende der Dottersackphase ein und hängt nicht von der Quantität sondern

entscheidend von der Qualität der Dotterreste ab. Diese frühe Futteraufnahme erweist sich als obligatorische Übergangsphase zwischen Dotterernährung und freiem Leben.

- c) Die im Syncytium liegenden riesigen Kerne machen eigentümliche Verformungen durch, die bei *Pterophyllum* besonders ausgeprägt sind.

2) Die Beziehungen zwischen Dottersack und Leber wurden besonders hervorgehoben. Es zeigte sich:

- a) Die Leber liegt bei allen vier Arten im Anlagezustand links neben dem Darm dem Dotter auf. Sie umwächst dann — ausser bei *Lebistes* — den Dottersack auf verschiedene Weise.
- b) Bereits nach dem ersten Drittel der Entwicklungszeit (Embryonal- + Postembryonalzeit) beginnt die Drüse Speicherstoffe (Glykogen) einzulagern. Vor Einsetzen der Fressstätigkeit werden diese Vorräte zu einem grossen Teil abgebaut.
- c) Bei *Pterophyllum*, *Lebistes* und *Coregonus* ist die Leber im Anlagezustand vom Dotter durch eine doppelte Splanchnopleuraschicht getrennt; diese reduziert sich in den folgenden Tagen auf eine einzige Zellige und bleibt erhalten. Bei den zwei erstgenannten Arten zeigt die Dottersplanchnopleura ausserhalb des Leberbereiches Veränderungen, während denen sie Zellen ins Coelom abgibt.
- d) Bei *Perca* liegt die Leber vom Zeitpunkt der Anlage an direkt — also ohne trennende Splanchnopleuraschichten — dem Dotter auf.
- e) Ergebnisse der Prüfung des Leber-Dottersack-Kontaktes. Der von einigen Autoren angegebene enge Kontakt und die vermuteten physiologischen Beziehungen sind von uns in keinem Fall beobachtet worden.

3) Der Dotterkreislauf, seine Blutzufuhr und Kapillarisierung, zeigten folgende Eigenheiten:

- a) *Coregonus* und *Perca* senden nur Leberblut über den Dottersack. Bei *Pterophyllum* und *Lebistes* nimmt in den Anfangsstadien das gesamte venöse Körperblut seinen Weg über den Dottersack; bei beiden Tieren nimmt der Anteil der

Venae hepaticae am Dottergefässnetz während der Entwicklung stark zu.

b) *Pterophyllum* und *Lebistes* zeigen zusätzliche, in den Dotterkreislauf eingeschaltete Gefässnetze.

4) Anhand der Ausbildung des Gefässnetzes wurde versucht, die Atemfunktion des Dotterkreislaufes abzugrenzen.

5) Ein Vergleich der Entwicklungsverläufe aller vier Species zeigte, dass bei der von Art zu Art stark verschiedenen Entwicklungszeit (*Pterophyllum* 10, *Perca* 25, *Lebistes* 36, *Coregonus* 100 Tage) im gleichen relativen Zeitpunkt die Leber angelegt und der Dotterkreislauf ausgebildet ist. Anlässlich dieser Untersuchungen erwies sich das erste Auftreten von Augenpigment, das zeitlich mit der Leberanlage zusammenfällt, als ein besonders markanter Fixpunkt für den Entwicklungsvergleich.

## RÉSUMÉ

Ce travail décrit les structures transitoires de la nutrition embryonnaire et postembryonnaire chez quelques téléostéens, particulièrement le sac vitellin et la circulation vitelline.

1) *Sac vitellin.*

a) Les gouttes huileuses disparaissent plus tard — ou plus lentement — que la masse vitelline proprement dite. La fonction de la partie huileuse est discutée.

b) L'alimentation commence bien avant que le vitellus soit complètement résorbé. Ce début précoce de l'alimentation ne dépend pas de la quantité, mais de la qualité du vitellus. Il est une transition indispensable entre les phases embryonnaire et libre.

c) Les très grands noyaux du syncytium vitellin présentent des formes extrêmement variées, tout particulièrement chez *Pterophyllum*.

2) *Les relations du foie avec le sac vitellin.*

a) L'ébauche du foie se trouve située sur le vitellus et placée à gauche du plan sagittal de l'embryon. Chez toutes nos

espèces sauf *Lebistes*, la glande envahit, au cours du développement, la masse vitelline.

- b) Déjà après un tiers de la période de développement (phases embryonnaire + postembryonnaire) le foie commence à se charger de réserves (glycogène), qui sont largement exploitées avant le commencement de l'alimentation.
- c) Chez *Pterophyllum*, *Lebistes* et *Coregonus* l'ébauche du foie est isolée du vitellus par deux couches de splanchnopleure; celles-ci sont réduites par la suite à un seul feuillet qui subsiste. La splanchnopleure hors de la région du contact foie/vitellus fournit des cellules libres qui se trouvent répandues dans le coelome.
- d) *Perca* montre un contact direct; en aucun moment la splanchnopleure ne s'interpose entre le foie et le vitellus.
- e) L'union intime entre les cellules hépatiques et le syncytium vitellin, décrite par quelques auteurs et interprétée comme une résorption du vitellus par le foie, n'existe chez aucune de nos espèces.

### 3) Circulation vitelline.

- a) Le sac vitellin de *Coregonus* et *Perca* n'est irrigué que par du sang veineux provenant du foie. Chez *Pterophyllum* et *Lebistes* tout le sang veineux passe par la surface du sac vitellin dans les phases premières; au cours du développement la part du sang fourni par les veines hépatiques augmente.
- b) La circulation vitelline de *Pterophyllum* et *Lebistes* montre des réseaux sanguins supplémentaires.

4) Nous avons essayé de préciser la fonction respiratoire de la circulation vitelline.

5) La comparaison des différentes ontogénèses a démontré que malgré une durée très variée: *Pterophyllum* 10, *Perca* 25, *Lebistes* 36, *Coregonus* 100 jours — le foie est ébauché et la circulation vitelline est constituée à la même époque relative. L'apparition du pigment dans les yeux nous a offert un point fixe très marqué et utile pour établir une comparaison des étapes du développement.

## SUMMARY

This paper describes and compares the development of different teleosts during the yolk sac phase, with special emphasis on the yolk sac, liver and vitelline circulation.

1) *Yolk sac.*

- a) The oil disappears later, or more slowly, than the viscous yolk. The function of the oil is discussed.
- b) The uptake of food starts a considerable time before the end of the yolk sac phase; the onset does not depend on the quantity but on the quality of the remaining yolk. This early beginning of food uptake proves indispensable for the transition between yolk sac phase and free life.
- c) The large nuclei within the yolk sac syncytium undergo peculiar deformations which are particularly striking in *Pterophyllum*.

2) *Relationship between yolk sac and liver.*

- a) The newly formed liver lies on the yolk sac, to the left of the intestine. It then grows round the yolk in various ways (*Lebistes* behaves differently).
- b) Already after one third of the developmental time (embryonic period + postembryonic period), the liver is seen depositing glycogen. These deposits are largely used up before food uptake begins.
- c) In *Pterophyllum*, *Lebistes* and *Coregonus*, the liver primordium is separated from the yolk sac by a double layer of the splanchnopleur, which is later reduced to one sheet. The latter persists to the end of the yolk sac phase. In the two former species, the decay of the yolk sac splanchnopleur outside the liver region has been observed giving off free cells into the coelom.
- d) The liver of *Perca* is never separated from the yolk by the splanchnopleur.
- e) The intimate contact of liver and yolk observed by some authors, and interpreted as the liver absorbing the yolk, has not been observed in any of our specimens.

3) *Blood circulation of the yolk sac.*

a) All the yolk sac vessels of *Coregonus* and *Perca* are hepatic veins. In the early stages of *Pterophyllum* and *Lebistes* all the venous blood passes over the yolk. During development that part of the blood which comes from the liver, increases.

b) The yolk circulation of *Pterophyllum* and *Lebistes* shows additional networks of blood vessels.

4) We have attempted to define the limits of the respiratory function of the yolk circulation.

5) The comparison of the different ontogeneses shows that, while the developmental times vary very largely (*Pterophyllum* 10, *Perca* 25, *Lebistes* 36 and *Coregonus* 100 days), the liver is established and the yolk circulation formed at the same relative period. The appearance of the eye pigment has proved to be a very marked and useful point of reference for comparing the different steps of development.

## LITERATURVERZEICHNIS

- BAER VON, K. E. 1835. *Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Fische*. Leipzig.
- BAILEY, R. J. 1933. *The ovarian cycle in the viviparous teleost Xiphophorus helleri*. Biol. Bull. 64: 206-225.
- BENNINGHOFF, A. 1922/23. *Zur Kenntnis und Bedeutung der Amitose und amitoseähnlicher Vorgänge*. Sitzungsber. Ges. Bef. ges. Natw. Marburg. Jg. 1922, 45-68.
- BERTIN, L. 1952. *Oviparité, Ovoviviparité, Viviparité*. Bull. Soc. Zool. 77: 84-88.
1958. *Ovuliparité, Oviparité, Viviparité*. Traité de Zool. 13: II. 1791-1812.
- BORCEA, I. 1909. *Observations sur la circulation embryonnaire chez les Téléostéens*. Ann. Sci. Univ. Jassy. 6: 84-100.
- BRACHET, A. 1935. *Traité d'Embryologie des Vertébrés. « Développement de l'appareil vasculaire » Téléostéens*. Masson, Paris. pp. 314-320.
- BREder, C. M. 1939. *On the Life History and Development of the Sponge Blenny Paraclinus marmoratus*. Zoologica N. Y. Zool. Soc. 24: p. 4.



- BROWN, M. 1957. *The Physiology of Fishes I*. Academic Press, New York.
- CHEVEY, P. 1924. *La connexion hépato-vitelline chez l'Alevin de Perche (Perca fluviatilis)*. Bull. Soc. Zool. France 49: 136-145.
- 1925. *Recherches sur la Perche et le Bar. Etude embryogénique, systématique et biogéographique des Percidés européens*. Bull. Biol. France et Belg. 59: 145-292.
- COLLE-VANDEVELDE, A. 1961a. *Sur l'origine du sang et des vaisseaux chez Lebistes reticulatus*. J. embr. exp. Morphol. 9: 68-76.
- 1961b. *Démonstration sur l'œuf « in toto » de l'origine embryonnaire du sang chez Lebistes reticulatus*. Ann. Soc. Roy. Belg. 91: 17-19.
- 1962. *Sur l'origine du sang et des vaisseaux chez Pterophyllum scalare*. Ann. Soc. Roy. Belg. 92: 133-139.
- FRASER, A. E. 1940. *Observation on the Breeding and Development of the viviparous fish, Heterandria formosa*. Quart. J. Micr. Sci. 81: 479-520.
- GIHR, M. 1957. *Zur Entwicklung des Hechtes*. Rev. suisse Zool. 64: 355-474.
- GILCH, G. 1957. *Vergleichende Untersuchungen eines hydrostatischen Apparates larvaler Labyrinthfische*. Zool. Jb. 76: 1-62.
- GRAY, J. 1928. *The growth of fish*. Brit. J. Exp. Biol. 6: 110-125.
- HAHN, R. 1957. *Untersuchungen über das Vorkommen von Amitosen im embryonalen Gewebe*. Diss. Univ. München.
- HEIN, W. 1906. *Zur Biologie der Forellenbrut*. Allg. Fischerei-Zeitung 31: Nr. 10/11.
- HENNEGUY, F. 1888. *Recherches sur le développement des Poissons osseux. Embryogénie de la Truite 2*. J. Anat. Physiol. 24: 525-617.
- INNES, W. T. 1945. *Exotic Aquarium Fishes*. Innes Publishing Co. Philadelphia, 6th Edition, pp. 430-434.
- JACKMAN, L. A. 1954. *The early development stages of the bass, Morone labrax*. Proc. Zool. Soc. London 124: 531-534.
- KRIEGSMANN, F. 1949. *Zur Schwimmblasenfunktion und zum Vorstrecken der Brut von Coregonen, besonders von Blaufelchen und Gangfisch*. Allg. Fischerei-Zeitung, Nr. 8.
- KRYZANOWSKI, S. G. 1934. *Die Atmungsorgane der Fischlarven (Teleostomi)*. Zool. Jb. 58: 21-60.
- KUNZ, Y. 1963. *Die embryonale Harnblase von Lebistes reticulatus*. Sitzung Schweiz. Zool. Ges. Genf, März 1963. Rev. suisse zool. 70: 291-297.
- *Der embryonale Dotterkreislauf von Lebistes reticulatus*. (Unpubliziert).
- LASKAR, K. 1943. *Zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte des Flussbarsches (Perca fluviatilis L.)*. Zool. Anz. 143: 277-282.
- LINDROTH, A. 1946. *Zur Biologie der Befruchtung und Entwicklung beim Hecht*. Mitt. Anstalt f. Binnenfischerei, Drottningholm, Stockholm, Nr. 24, 173 pp.

- MATHUR, D. K. 1949. *The origin, distribution and fate of the lipids in the egg, food-reserve and embryo of the common English trouts (S. trutta and S. irideus)*. Inaug. Diss. Cambridge.
- MEINKEN, H. *Pterophyllum eimekei* und *Pterophyllum scalare*, in «*Aquarienfische in Wort und Bild*». A. Kernen-Verlag, Stuttgart.
- NEEDHAM, J. 1931. *Chemical Embryology*. Vol. III. Cambridge, pp. 503-514.
- NORDQUIST, A. 1914. *Bidrag till kännedomen om vara sötvattensfiskars larvstadier*. Ark. Zool. Svensk. Vet. Akad. 9: 1-49.
- NÜESCH, H. 1958. *Augenentwicklung und Schlüpftermin bei Hecht und Forelle*. Rev. suisse Zool. 65: 396-404.
- PEARSE, A. G. E. 1960. *Histochemistry Theoretical and Applied*. Churchill London, 231 pp.
- PETERS, H. M. 1947. *Über Bau, Entwicklung und Funktion eines eigenartigen hydrostatischen Apparates larvaler Labyrinthfische*. Biol. Zbl. 66: 304-329.
- PFUHL, W. 1932. *Die Leber*. Hb. mikrosk. Anat. d. Menschen, 5: 2, 263-347.
- POHLMANN, J. H. L. 1939. *Ontogenie und mikroskopischer Bau der Leber einiger Fische*. Arch. néerl. Zool. 3: 64-140.
- PORTMANN, A. 1927. *Die ersten Stadien des Blutkreislaufs bei Teleostierembryonen und die Ausbildung der Dottersackzirkulation*. Verh. Naturf. Ges. Basel 38: 416-426.
- und METZNER, G. 1929. *Die Verbindung von Leber und Dottersack bei Teleostierlarven*. Verh. Naturf. Ges. Basel 40: 271-279.
- PURSER, G. L. 1940. *Reproduction in Lebistes reticulatus*. Quart. J. Micr. Sci. 81: 151-157.
- RINGGENBERG, H. 1964. *Zur Kenntnis der Embryonalentwicklung des Lichtsinnes-Systems von Salmo irideus und Esox lucius*. Verh. Naturf. Ges. Basel 75: H. 2 (im Druck.)
- ROSENTHAL, H. L. 1952. *Observations on reproduction of the poeciliid Lebistes reticulatus (Peters)*. Biol. Bull. Woods Hole 102: 30-38.
- 1953. *Embryonic development of the lordotic and normal guppy, Lebistes reticulatus (Peters)*. Biol. Bull. Woods Hole 105: 160-165.
- RYDER, J. A. 1885. *On the Development of Viviparous osseous Fishes*. Proc. U.S. Nat. Mus. 8: 128-155.
- SCHINDLER, O. 1934. *Über die Brut von vier einheimischen Süßwasserfischen (Aesche, Hecht, Flussbarsch, Karpfen)*. Allg. Fischerei-Zeitung 59: Nr. 20, 305-319.
- 1935. *Zur Biologie der Larven von Barsch (Perca fluviatilis L.) und Hecht (Esox lucius L.)*. Verh. Dtsch. Zool. Ges. Stuttgart, 1935. Zool. Anz. Suppl. 8: 141-149.
- SCRIMSHAW, N. S. 1944. *Embryonic growth in the viviparous poeciliid fish, Heterandria formosa*. Biol. Bull. 87: 37-51.

- SCRIMSHAW, N. S. 1945. *Embryonic Development in Poeciliid Fishes*. Biol. Bull. 88: 233-246.
- SLAWINSKI, S. 1959. *Pterophyllum scalare* Cuv. et Val. and its life in aquarium. Przegląd Zool., III: 286-290.
- SMITH, S. 1957. In M. BROWN, *The Physiology of Fishes*. Acad. Press, New York, Chapt. VIII, 1, pp. 323-359.
- 1958. *Yolk Utilisation in Fishes (III)*. The Development Biol. Conference Series, Chicago 1956, Embryonic Nutrition (ed. D. RUDNICK). pp. 33-53. Univ. Chicago Press. 1958.
- SPRENGER, K. 1945. *Studien an den Brustflossen junger Bachforellen (Salmo fario)*. Rev. suisse Zool. 52: 421-504.
- STEINMANN, P. 1949. *Gründe für das verschiedene Aussehen frischgeschlüpfter Felchenbrut*. Rev. suisse Zool. 56: 349-355.
- TAVOLGA, W. N. and RUGH, R. 1947. *Development of the Platyfish, Platypoecilus maculatus*. Zoologica N.Y. 32: 1-15.
- 1949. *Embryonic Development of the Platyfish (Platypoecilus) the Swordtail (Xiphophorus) and their Hybrids*. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 94: 167-229.
- TRINKAUS, J. P. and DRAKE, J. W. 1952. *Role of exogenous nutrients in development of the viviparous teleost, Lebistes reticulatus*. Anat. Record 112: 2.
- TURNER, C. L. 1937. *Reproductive Cycles and Superfetation in Poeciliid fishes*. Biol. Bull. 72: 145-164.
- 1940. *Pseudoamnion, Pseudochorion and Follicular Pseudoplacenta in Poeciliid Fishes*. J. Morph. 67: 59-89.
- VOGT, G. 1842. *Embryologie des Salmones*. In L. AGASSIZ: « *Histoire naturelle des poissons d'eau douce* ».
- WEBER, H. 1920. *Beiträge zur Kenntnis der Resorption des Dottersackes und der Ausbildung einzelner Organe bei gefütterter und ungefütterter Forellenbrut*. Inaug. Diss. München.
- WESSING, A. und CLAES, H. 1958. *Die Herstellung von orientierten Schnittpräparaten dotterreicher Objekte. Die Verarbeitung von Amphibieneiern*. Zs. f. wiss. Mikr. u. mikr. Tech. 63: 477-483.
- WILSON, H. V. 1891. *The Embryology of the Sea Bass. (Serranus atrarius)*. Bull. U.S. Fish Commission. 9: 209-278.
- ZIEGLER, H. E. 1882. *Die embryonale Entwicklung von Salmo salar*. Diss. Freiburg i.B., 64 pp.
- 1887. *Die Entstehung des Blutes bei Knochenfischembryonen*. Arch. f. mikr. Anat. 30: 596-665.
- 1891. *Die biologische Bedeutung der amitotischen (direkten) Kernteilung im Tierreich*. Biol. Zbl. 11: 372-389.
- 1902. *Lehrbuch der vergleichenden Entwicklungsgeschichte der niederen Wirbeltiere. VI. Teleostier*. G. Fischer, Jena, pp. 169-218.



N° 12.	TSCHUMI, P. A. Die Evolution der Gliedmassen in entwicklungsphysiologischer Perspektive. Mit 5 Textabbildungen . . . . .	215-236
N° 13.	MICHEL, Franz. Erste Ergebnisse vergleichender Messungen am Schädel des eiszeitlichen, in der Schweiz gefundenen Murmeltiers <i>Marmota marmota</i> . Mit 1 Textabbildung und 8 Diagrammen . . . . .	237-254
N° 14.	FYG, W. Eine eigenartige Entwicklungsanomalie der Honigbiene ( <i>Apis mellifica</i> ). Mit 5 Textabbildungen . . . . .	255-266
N° 15.	EAKIN, Richard M. Development of the third eye in the lizard <i>Sceloporus occidentalis</i> . With seven text figures . . . . .	267-286
N° 16.	WITSCHI, Emil and Saylo MUNEMITSU. Fetal stage of a male pseudohermaphrodite. With 1 text figure and 2 plates . . . . .	287-298
N° 17.	HEDIGER-ZURBUCHEN, H. und K. Einige ungewöhnliche Lokomotionsweisen bei Säugetieren. Mit 9 Textabbildungen . . . . .	299-310
N° 18.	JÉQUIER, Jean-Pierre. Etude écologique et statistique de la faune terrestre d'une caverne du Jura Suisse au cours d'une année d'observation. Avec 12 figures, 5 planches et 2 plans hors texte . . . . .	313-370
N° 19.	DUBOIS, Georges. Contribution à l'étude des Trématodes de Chirop- tères. Avec 3 figures dans le texte . . . . .	371-382
N° 20.	GISIN, Hermann. Collemboles d'Europe. VI. Avec 17 figures dans le texte . . . . .	383-400
N° 21.	MATTHEY, Robert. Etudes sur les chromosomes d' <i>Ellobius lutescens</i> ( <i>Mammalia</i> — <i>Muridae</i> — <i>Microtinae</i> ). Avec 17 figures dans le texte . . . . .	401-410
N° 22.	BESUCHET, Claude. Psélaphides paléarctiques. Espèces nouvelles et notes synonymiques. II ( <i>Coleoptera</i> ). Avec 35 figures dans le texte . . . . .	411-444
N° 23.	KUNZ, Yvette. Morphologische Studien über die embryonale und post- embryonale Entwicklung bei Teleostiern mit besonderer Berück- sichtigung des Dottersystems und der Leber. Mit 39 Textabbildungen . . . . .	445-525

PUBLICATIONS  
DU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

En vente chez GEORG & Cie, libraires à Genève.

CATALOGUE DES INVERTÉBRÉS DE LA SUISSE

Fasc. 1.	SARCODINÉS par E. PENARD	Fr. 12.—
Fasc. 2.	PHYLLOPODES par Th. STINGELIN	» 12.—
Fasc. 3.	ARAIGNÉES par R. DE LESSERT	» 42.—
Fasc. 4.	ISOPODES par J. CARL	» 8.—
Fasc. 5.	PSEUDOSCORPIONS par R. DE LESSERT	» 5.50
Fasc. 6.	INFUSOIRES par E. ANDRÉ	» 18.—
Fasc. 7.	OLIGOCHÊTES par E. PIGUET et K. BRETSCHER	» 18.—
Fasc. 8.	COPÉPODES par M. THIÉBAUD	» 18.—
Fasc. 9.	OPILIONS par R. DE LESSERT	» 11.—
Fasc. 10.	SCORPIONS par R. DE LESSERT	» 3.50
Fasc. 11.	ROTATEURS par E.-F. WEBER et G. MONTET	» 38.—
Fasc. 12.	DÉCAPODES par J. CARL	» 11.—
Fasc. 13.	ACANTHOCEPHALES par E. ANDRÉ	» 11.—
Fasc. 14.	GASTÉROTRICHES par G. MONTET	» 18.—
Fasc. 15.	AMPHIPODES par J. CARL	» 12.—
Fasc. 16.	HIRUDINÉES, BRANCHIOBELLES et POLYCHÊTES par E. ANDRÉ	» 17.50
Fasc. 17.	CESTODES par O. FUHRMANN	» 30.—
Fasc. 18.	GASTÉROPODES par G. MERMOD	» 68.—

LES OISEAUX DU PORT DE GENÈVE EN HIVER

par F. DE SCHAECK

Avec 46 figures dans le texte. Fr. 6.—

En vente au Muséum d'Histoire naturelle de Genève.

CATALOGUE ILLUSTRÉ DE LA COLLECTION LAMARCK  
APPARTENANT AU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

1<sup>re</sup> partie. — FOSSILES — 1 vol. 4<sup>o</sup> avec 117 planches. Fr. 300.—

COLLEMBOLENFAUNA EUROPAS von H. GISIN

312 Seiten, 554 Abbildungen Fr. 24.—

Tome 71

Fascicule 3 (Nos 24-35)

Septembre 1964

# REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

ANNALES

DE LA

SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

ET DU

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

MAURICE BEDOT

fondateur

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

EMILE DOTTRENS

Directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève

AVEC LA COLLABORATION DE

HERMANN GISIN

Conservateur des arthropodes

et

EUGÈNE BINDER

Conservateur des invertébrés

*Ce fascicule renferme les travaux présentés à l'Assemblée  
générale de la Société suisse de Zoologie tenue à Zurich  
les 11 et 12 avril 1964  
à l'Institut de Zoologie de l'Ecole polytechnique fédérale*

GENÈVE

IMPRIMERIE KUNDIG

1964

# REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

Tome 71. En cours de publication.

	Pages
LEHMANN, F. E. Die Arbeiten F. Baltzers in der Dekade 1950-1960 als Wegweiser zur Problematik des genetisch-entwicklungsphysiologischen Evolutionsgeschehens. Geleitworte des Zoologischen Instituts der Universität Bern zum 12. März 1964, dem 80. Geburtstage von Prof. F. Baltzer . . . . .	1-8
HUBER, W. und P. A. TSCHUMI. Verzeichnis der Publikationen von F. Baltzer . . . . .	9-20
N° 1. RUNNSTRÖM, John, Sven HÖRSTADIUS, Janis IMMERS and Molly FUDGE-MASTRANGELO. An analysis of the role of sulfate in the embryonic differentiation of the sea urchin ( <i>Paracentrotus lividus</i> ). With 17 text figures . . . . .	21-54
N° 2. BRÄCHET, J. Nouvelles observations sur les hybrides létaux entre Batraciens et entre Echinodermes . . . . .	55-74
N° 3. WOLFF, Etienne, Théodore LENDER et Catherine ZILLER-SENGEL. Le rôle de facteurs auto-inhibiteurs dans la régénération des Planaires (Une interprétation nouvelle de la théorie des gradients physiologiques de Child). Avec 14 figures dans le texte . . . . .	75-98
N° 4. HADORN, Ernst. Bedeutungseigene und bedeutungsfremde Entwicklungsleistungen proliferierender Primordien von <i>Drosophila</i> nach Dauerkultur in vivo. Mit 6 Textabbildungen . . . . .	99-116
N° 5. TIEDEMANN, Hildegard und Heinz TIEDEMANN. Das Induktionsvermögen gereinigter Induktionsfaktoren im Kombinationsversuch. Mit 6 Textabbildungen . . . . .	117-138
N° 6. TOIVONEN, Sulo, Tapani VAINIO und Lauri SAXÉN. The Effect of Actinomycin D on Primary Embryonic Induction. With 4 text figures . . . . .	139-146
N° 7. CHEN, P. S. und A. FISCHER. Zur Entwicklung der xenoplastischen Augenchimären. Mit 13 Textabbildungen . . . . .	147-166
N° 8. TARBENT, Pierre. Der Sauerstoff-Verbrauch normaler und regenerierender Hydrocauli von <i>Tubularia</i> . Mit 4 Diagrammen . . . . .	167-182
N° 9. LÜSCHER, M. und M. Wyss-HUBER. Die Adenosin-Nukleotide im Fettkörper des adulten Weibchens von <i>Leucophaea maderae</i> im Laufe des Sexualzyklus. Mit 1 Diagramm . . . . .	183-194
N° 10. NOWINSKI, Wiktor W. and William C. MAHAFFEY. Oxidative Phosphorylation in Liver of Poikilothermic Animals ( <i>Rana pipiens</i> ) . . . . .	195-202
N° 11. REVERBERI, C. Data concerning the relative distribution of two varieties of <i>Discoglossus pictus</i> in Sicily ( <i>Amphibia</i> ) . . . . .	203-214

(Voir suite page 3 de la couverture)

## Prix de l'abonnement :

Suisse Fr. 75.—

Union postale Fr. 80.—

(en francs suisses)

Les demandes d'abonnement doivent être adressées à la rédaction de la *Revue Suisse de Zoologie*, Muséum d'Histoire naturelle, Genève



## COMMUNICATIONS

FAITES A L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE DE LA SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE,  
TENUE A ZÜRICH LES 11 ET 12 AVRIL 1964

MITGETEILT AN DER GENERALVERSAMMLUNG DER SCHWEIZERISCHEN  
ZOOLOGISCHEN GESELLSCHAFT IN ZÜRICH DEN 11. UND 12. APRIL 1964

*Les Communications suivantes seront publiées dans d'autres revues :*

*Werden in anderen Zeitschriften veröffentlicht :*

**R. Matthey.** Mutations chromosomiques et spéciation. Les systèmes polymorphes dans le sous-genre *Leggada* Gray (*Mammalia*, *Muridae*). (Paraîtra dans les ARCHIVES DE BIOLOGIE).

**J. Seiler.** Biologische und zytologische Beobachtungen zum Übergang von der diploiden zur tetraploiden Parthenogenese bei *Solenobia triquetrella* F. R. (*Psychidae*, *Lepid.*). (Erscheint in Kürze in CHROMOSOMA).

**E. Sutter.** Zum postembryonalen Wachstum des Talegallahuhns (*Megapodiidae*). (Wird unter dem Titel *Über relatives Wachstum bei Megapodiiden und Phasianiden* im JOURNAL FÜR ORNITHOLOGIE erscheinen).

**R. Weber.** Elektronenmikroskopische Beobachtungen über die Rückbildung der Schwanzmuskulatur bei metamorphosierenden Kaulquappen. (Diese Arbeit erscheint unter dem Titel: *Ultra-structural changes in regressing tail muscles of Xenopus-larvae at metamorphosis* im JOURNAL OF CELL BIOLOGY, 20 (1964)).

INSTITUTION 12 1964

Nº 24. **J. Aschoff.** — Die Tagesperiodik licht- und dunkelaktiver Tiere. (Mit 16 Textabbildungen.)<sup>1</sup>

Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen und Erling-Andechs.

### EINLEITUNG

Dem mit der Erddrehung verbundenen krassen Wechsel der Lebensbedingungen von Tag zu Nacht sind nahezu alle Lebewesen ausgesetzt. Die Anpassung an diese Zeitstruktur der Umwelt hat dazu geführt, dass sich die Tierwelt unter anderem in zwei grosse Gruppen mit zeitlich verschiedener ökologischer Nische trennte: die tagaktiven, besser lichtaktiven Tiere und die dunkelaktiven (nachtaktiven) Tiere. Diese vielbenutzten Begriffe scheinen so eindeutig zu sein, dass sie keiner genaueren Definition bedürfen. Sie beziehen sich ursprünglich darauf, in welchen Teil des Tages die beobachtete oder gemessene Aktivität einer Art fällt. Genauere Betrachtung zeigt, dass diese Zuordnung bei manchen Arten auf Schwierigkeiten stösst und dass unter bestimmten Bedingungen scheinbar eindeutige Fälle von Lichtaktivität bzw. Dunkelaktivität zu der an anderen Kriterien bestimmten physiologischen Eigenart des betreffenden Tieres im Widerspruch stehen können. Daraus folgt die Forderung nach einer Definition, die nicht lediglich die Verteilung der Aktivität auf Licht und Dunkel beschreibt sondern physiologische Eigenschaften einer Art beinhaltet. Möglichkeiten zu einer solch neuen Fassung der Begriffe „lichtaktiv“ und „dunkelaktiv“ scheinen sich aus den Gesetzmässigkeiten der endogenen biologischen Tagesperiodik zu ergeben.

#### 1. *Das Aktivitätsmuster*

Bei Arten, deren Aktivität sich ausschliesslich auf die eine oder andere Hälfte des Tages beschränkt, macht die Zuordnung zur Gruppe der lichtaktiven oder dunkelaktiven Tiere keine Schwierigkeit. Waldmaus und Flughörnchen sind dunkelaktiv (Abb. 1, rechts), Backenhörnchen und amerikanische Feldmaus lichtaktiv

<sup>1</sup> Herrn Professor Dr. Erwin Stresemann zum 75. Geburtstag gewidmet.

(Abb. 1, links). Das Aktivitätsmuster der letztgenannten Art ist aber bereits nicht völlig eindeutig, da ein nicht unbeträchtlicher Teil der Aktivität in die Dunkelzeit fällt. Von diesem Muster führt eine Reihe mit zunehmend gleichmässigerer Verteilung der Akti-

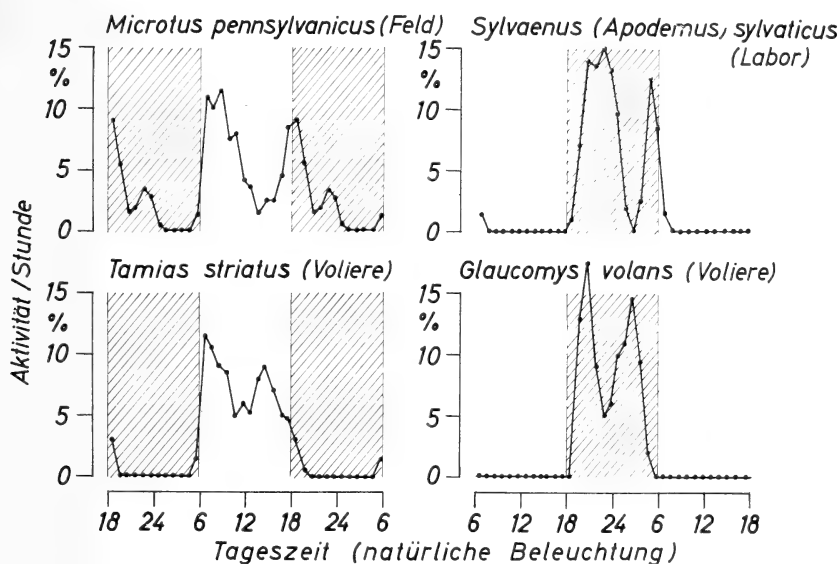


ABB. 1.

Stundenwerte der Aktivität von 4 Säugetierarten (in % der Aktivität/24 Std.) unter natürlichen Beleuchtungsbedingungen. Dunkelzeiten schraffiert. *Microtus* nach HAMILTON (1937), *Sylvaenus* nach ZOLLHAUSER (1958), *Tamias* und *Glaucomys* nach GRAEFE (1961).

vität bis zum Muster der Spitzmaus (Abb. 2); die an 10 aufeinander folgenden Tagen registrierte Aktivität lässt so gut wie keine Bevorzugung von Licht oder Dunkel erkennen. Die über je 12 min gemessenen Aktivitätswerte gruppieren sich zu „Schüben“, die in Abständen von rund zwei Stunden ohne jede längere Ruhepause aufeinander folgen. Bildet man allerdings einen Mittelwert des Musters über alle 10 Tage, so wird deutlich, dass die Spitzmaus in der Dunkelzeit aktiver ist als in der Lichtzeit. Es bleibt fraglich, ob diese Feststellung genügt, die Spitzmaus der Gruppe der dunkelaktiven Tiere zuzuordnen.

Zweifel über die Zugehörigkeit einer Art zur licht- oder dunkelaktiven Gruppe können auch dann auftreten, wenn die Tages-

periodik klar ausgebildet ist. ERKINARO (1961) hat während zweier Jahre die Aktivität europäischer Feldmäuse in Käfigen unter natürlichen Bedingungen des Klimas und der Belichtung in Finnland gemessen. Seine Ergebnisse lassen erkennen (Abb. 3), dass

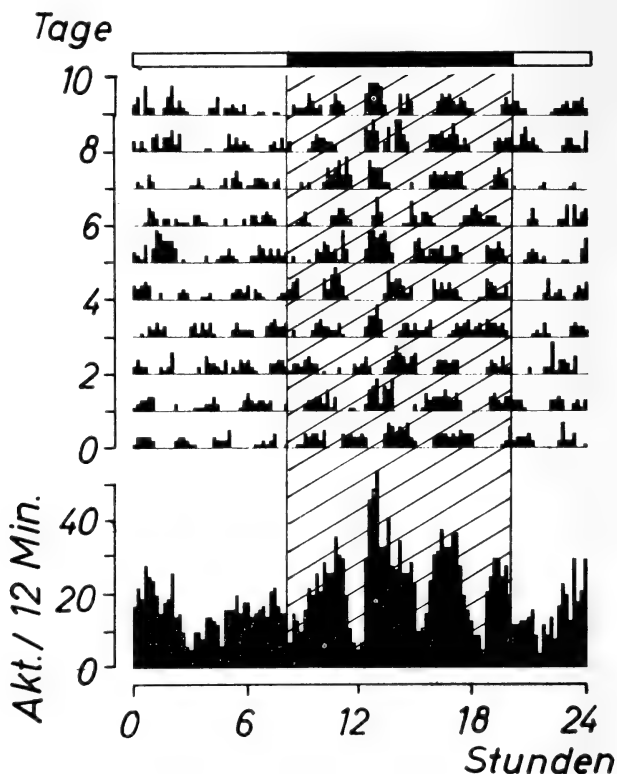


ABB. 2.

Schubfolge der Aktivität bei der Spitzmaus *Sorex araneus* im künstlichen Belichtungswechsel. Dunkelzeit schraffiert. Oben: 10 aufeinander folgende Tage; unten: Summenwerte über alle Tage. Nach CROWCROFT (1954).

diese Nager-Art im Sommer dunkelaktiv, im Winter aber lichtaktiv ist; im Frühjahr und im Herbst sind die Tiere offenbar aperiodisch. Weiterhin gibt es Arten, die im Laufe der Ontogenese von Lichtaktivität zu Dunkelaktivität (oder umgekehrt) überwechseln. Ein Beispiel liefern Messungen von MATUTANI und MORI (1950) an der japanischen Landschnecke *Fruticicola* (*Acusta*)

*sieboldiana* (Abb. 4). Junge Tiere (mit einer Körperlänge bis zu 0,4 cm) sind in der Lichtzeit nahezu doppelt so aktiv wie in der Dunkelzeit; ausgewachsene Tiere (0,9 cm oder länger) sind so gut wie ausschliesslich dunkelaktiv. (Weitere Hinweise auf jahres-

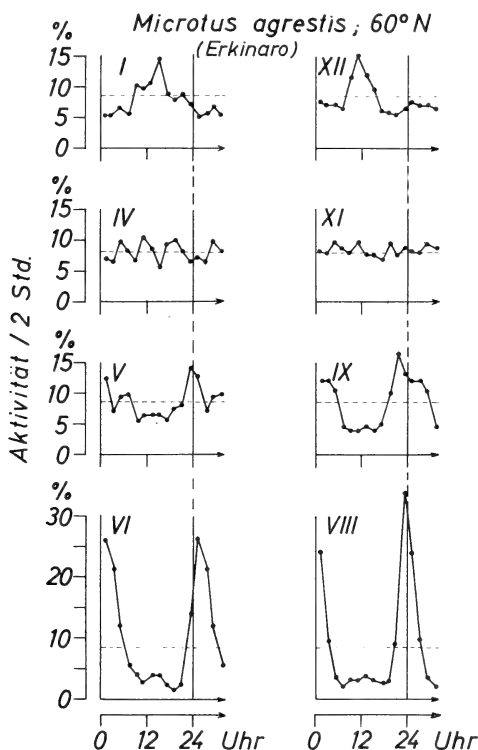


ABB. 3.

2-Stunden-Werte der Aktivität der Feldmaus unter natürlichen Bedingungen im Käfig zu verschiedenen Jahreszeiten. Jedes Diagramm gemittelt über die Registrierungen mehrerer Tage. Nach ERKINARO (1961).

zeitlichen und ontogenetischen Wechsel des Musters bei ASCHOFF 1962).

Die Diagramme von Abb. 3 verbieten es, die Feldmaus als Art den dunkelaktiven Tieren zuzuordnen. Wohl aber kann man sagen: Die Feldmaus ist im Sommer dunkel-, im Winter lichtaktiv. Diese Aussage ist berechtigt, solange mit „lichtaktiv“ und „dunkelaktiv“ lediglich Eigentümlichkeiten des Aktivitätsmusters in

Kurzform beschrieben werden. Wenn darüber hinaus die beiden Begriffe physiologische Zustände ausdrücken sollen, die zur Bevorzugung von Licht oder Dunkel führen, so besagen die Diagramme von Abb. 3: Bei der Feldmaus ändern sich die physiologischen, das Aktivitätsmuster bestimmenden Zustände im Verlauf des

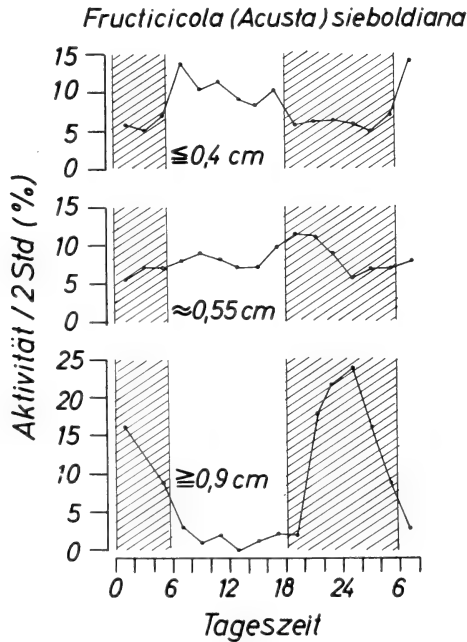


Abb. 4.

Aktivitätsperiodik einer japanischen Landschnecke (*Pulmonata*) im Verlauf der Entwicklung vom Jungtier (kleiner als 0,4 cm) zum ausgewachsenen Tier (0,9 cm und länger) im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel. Dunkelzeit schraffiert. Nach MATUTANI und MORI (1949).

Jahres. Die Annahme solcher Änderungen ist im Hinblick auf bekannte andere physiologische Jahrescyclen durchaus berechtigt. Sie verliert ihren Sinn, wenn man sie auf Musteränderungen anwendet, die sich innerhalb kürzester Zeit experimentell durch eine geringe Änderung der Umweltbedingungen erzeugen lassen. Die Laboratoriumsmaus ist unter den Bedingungen eines künstlichen Belichtungswechsels mit 12 Std. Lichtzeit und 12 Std. Dunkelzeit überwiegend dunkelaktiv (Abb. 5, Mitte). Diese Dunkel-

aktivität wird eher noch deutlicher, wenn man Licht- und Dunkelzeit um je 1 Std. verkürzt, d.h. wenn das Tier in einem künstlichen 22-Std.-Tag zu leben gezwungen ist (Abb. 5 unten). Ein wesentlich anderes Bild ergibt sich dagegen bei Verlängerung des Tages um 2 Std.: Das Maximum der Aktivität liegt nun klar in der Mitte der Lichtzeit (Abb. 5, oben). Die Umstellung der Maus vom 24-stündigen

auf den 26-stündigen Belichtungswechsel und damit von Dunkel- auf Lichtaktivität vollzieht sich innerhalb eines oder zweier Tage. In solch kurzer Zeit sind grundlegende Änderungen des physiologischen Zustandes, wie sie im Verlauf des Jahres vorkommen mögen, wenig wahrscheinlich. Es handelt sich also, physiologisch gesehen, im 24- und im 26-Std.-Tag um „dasselbe“, zur dunkelaktiven Gruppe gehörige Tier, das lediglich in seinem Aktivitätsmuster im besonderen Fall des 26-Std.-Tages „lichtaktiv“ wird. Die Verschiebung der Aktivität eines dunkelaktiven Tieres von der Dunkelzeit in die Lichtzeit bei Verlängerung des künstlichen Belichtungswechsels ist eine zwangsläufige, theoretisch wohl

bekannte Folge der Tatsache, dass die biologische Tagesperiodik Eigenschaften einer selbsterregten Schwingung besitzt (vgl. Kapitel 2 und 3). Einzelheiten dieser Zusammenhänge brauchen hier nicht erörtert zu werden; sie sind an anderer Stelle ausführlich dargestellt. (ASCHOFF 1964a). Das Beispiel von Abb. 5 ist lediglich deshalb angeführt, weil es eindringlicher noch als die Diagramme von Abb. 3 und 4 zeigt, wie vieldeutig die Begriffe „lichtaktiv“ und „dunkelaktiv“ sein können. Sollen sie mehr beinhalten als lediglich die Beschreibung des Aktivitätsmusters unter einer gegebenen Bedingung, so müssen zu ihrer Definition andere Kriterien herangezogen werden, als das Aktivitätsmuster sie zu liefern vermag.

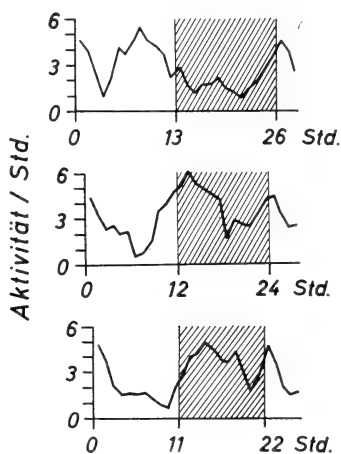


ABB. 5.

Aktivitätsperiodik der weissen Laboratoriumsmaus im künstlichen Belichtungswechsel mit jeweils 50% Lichtzeit. Mittelwerte über jeweils mehrere Kunsttage von 26 Std. (oben), 24 Std. (Mitte) und 22 Std. Länge (unten).

Das Studium der biologischen Tagesperiodik und ihrer Gesetzmässigkeiten hat neuerdings Möglichkeiten eröffnet, den Begriffen „lichtaktiv“ und „dunkelaktiv“ physiologische Bedeutung zu geben. Das folgende Kapitel 2 bringt die experimentellen Ergebnisse, die zur circadianen Regel des Verhaltens licht- und dunkelaktiven Tiere geführt haben. Im dritten Kapitel wird diese Regelschwingungstheoretisch gedeutet und eine Voraussage über das Verhalten beider Tiergruppen unter natürlichen Bedingungen im Verlauf des Jahres gemacht. Das Schlusskapitel enthält Beispiele aus der Literatur, die die Richtigkeit dieser Voraussagen bestätigen.

## 2. Die circadiane Regel

Aus zahlreichen Untersuchungen der letzten 10 Jahre geht übereinstimmend hervor, dass die biologische Tagesperiodik nicht eine rein passive Reaktion auf die Periodik der Umwelt ist. Sie beruht vielmehr auf einer den meisten Organismen angeborenen Systemeigenschaft, die auch beim Fehlen äusserer periodischer Einflüsse zu rhythmischen Lebensäusserungen führt. Bei vielen Tieren dauert die Periodik unter konstanten Bedingungen im Laboratorium unbegrenzt an. Der Beweis, dass äussere periodische Kräfte (etwa kosmischer Herkunft) als Ursache ausscheiden, ist allerdings nur dann erbracht, wenn unter solchen Bedingungen die Frequenz der biologischen Periodik von der Erddrehung abweicht. An verschiedenen Organismen sind solche endogenen „Spontanfrequenzen“ einwandfrei nachgewiesen. Da ihre Perioden nur ungefähr der des terrestrischen Tages entsprechen, hat HALBERG (1959) für sie die Bezeichnung „circadian“ vorgeschlagen. Warum die circadianen Spontanfrequenzen als schlüssiger Beweis für die endogene Natur des Vorganges angesehen werden müssen, ist an anderer Stelle ausführlich begründet (ASCHOFF 1960, 1963a; vgl. auch PITTENDRIGH 1958).

Die circadiane Periodik lässt sich leicht und ohne Störung der Versuchstiere an der lokomotorischen Aktivität verfolgen. Die Abb. 6 bringt Registrierungen der Aktivität von zwei Buchfinken, die zunächst unter den Bedingungen eines künstlichen Belichtungswechsels, anschliessend im konstanten Dauerlicht von 1,8 Lux bzw. 120 Lux gehalten sind. Im Belichtungswechsel mit 12 Std. Lichtzeit und 12 Std. Dunkelzeit ist die Aktivität der Buchfinken eng



an die Lichtzeit gebunden. Anfang und Ende der Aktivität begrenzen die Aktivitätszeit  $\alpha$ ; zwischen zwei Aktivitätszeiten liegt die Ruhezeit  $\rho$ . Aktivitäts- und Ruhezeit bilden zusammen die Periode  $\tau$ . Die Summe aller Stundenwerte einer Aktivitätszeit (= dem Flächenintegral über  $\alpha$ ) entspricht der Aktivitätsmenge des Vogels während einer Periode.

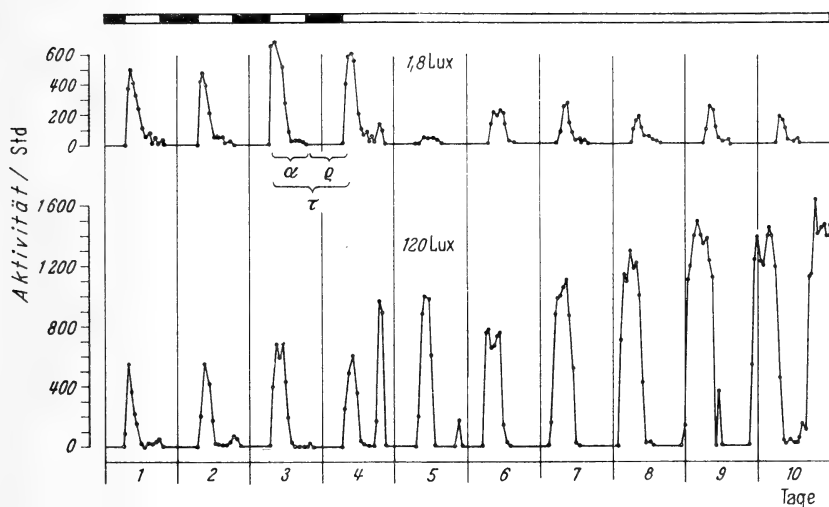


ABB. 6.

Aktivitätsperiodik zweier Buchfinken im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel (links) und anschliessend unter konstanten Bedingungen mit Dauerlicht von 1,8 Lux (rechts oben) bzw. 120 Lux (rechts unten).  $\alpha$  = Aktivitätszeit,  $\rho$  = Ruhezeit,  $\tau$  = Periode. Aus: ASCHOFF und Mitarbeiter (1962).

Beim Übergang zu ununterbrochener Beleuchtung bleibt das Bild der Periodik in seinen allgemeinen Zügen erhalten, es ändern sich jedoch einige Messgrößen (Abb. 6, rechts). Im schwachen Dauerlicht (1,8 Lux) nimmt die mittlere Aktivität des Vogels ab, und die Periode wird um ein Weniges länger. Bei stärkerem Dauerlicht nimmt die Aktivitätsmenge zu, die Periode wird kürzer. Als drittes ändert sich das  $\alpha$  :  $\rho$  -Verhältnis: Im starken Dauerlicht ist die Aktivitätszeit länger und die Ruhezeit kürzer als bei schwachem Dauerlicht.

Das Ergebnis der eben geschilderten und weiterer ähnlicher Versuche lässt sich in den einfachen Satz fassen: Beim Finken werden unter konstanten Bedingungen mit steigender Beleuch-

tungsstärke Frequenz, Aktivitätsmenge und  $\alpha: \rho$ -Verhältnis grösser. In Abb. 7 sind die Mittelwerte von Versuchen mit vier Buchfinken bei drei Beleuchtungsstärken eingezeichnet. Es zeigt sich, dass die drei Messgrößen positiv und etwa linear mit dem Logarithmus der Beleuchtungsstärke korreliert sind. Genau das

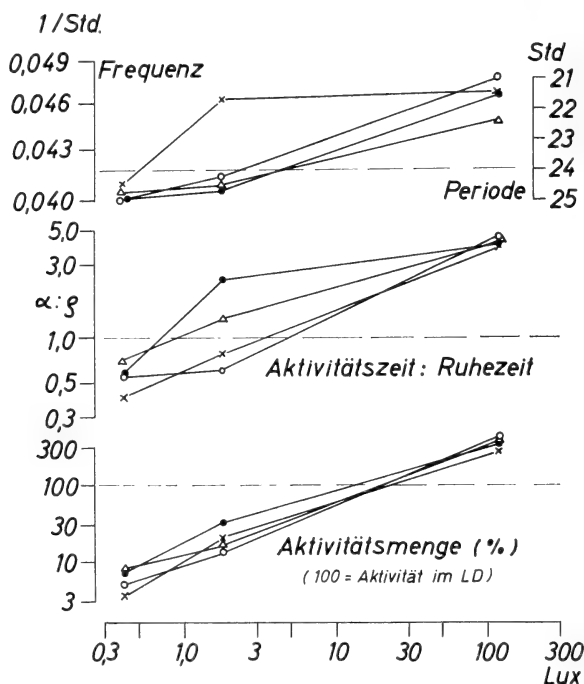


ABB. 7.

Drei Parameter der Aktivitätsperiodik von 4 Buchfinken in Abhängigkeit von der Beleuchtungsstärke unter konstanten Bedingungen, gemessen über jeweils mindestens 23 Tage bei 0,4, 1,8 und 120 Lux. Aus: ASCHOFF (1963b).

Gegenteil gilt für den Goldhamster: Bei ihm werden unter konstanten Bedingungen mit wachsender Beleuchtungsstärke Aktivitätsmenge und  $\alpha: \rho$ -Verhältnis kleiner, unter gleichzeitiger Verlängerung der Periode (Abb. 8). Das amerikanische Flughörnchen, *Glaucomys volans*, verhält sich ähnlich wie der Goldhamster. Die Abb. 9 bringt Messwerte von 6 Tieren. Beim Übergang von unmessbar geringer Beleuchtung („DD“ = Dauerdunkel) zu Dauerlicht von 0,1 Lux ändern sich die Parameter der Periodik so gut

wie nicht; mit weiter wachsender Beleuchtungsstärke wird jedoch  $\tau$  schnell grösser, das  $\alpha:\rho$ -Verhältnis kleiner.

Ordnet man die bisher vorliegenden, an verschiedenen Tierarten erhobenen Befunde in üblicher Weise danach, in welche Hälfte

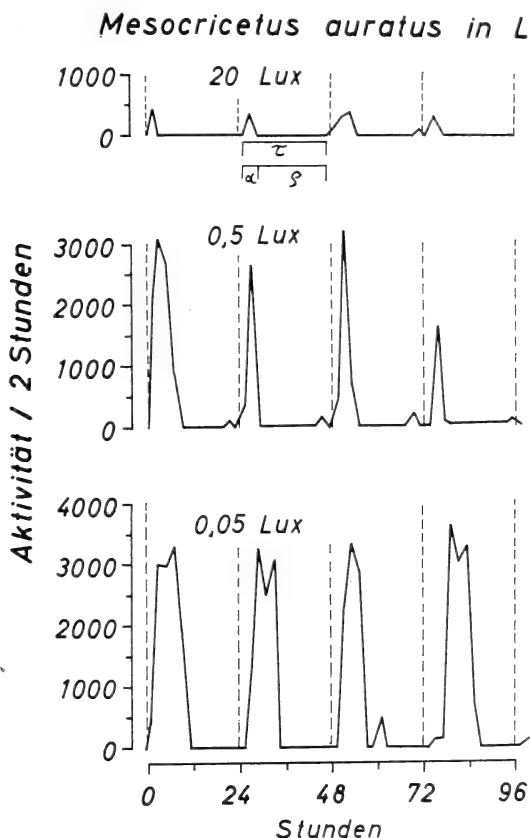


ABB. 8.

Aktivitätsperiodik eines Goldhamsters unter konstanten Bedingungen bei drei Beleuchtungsstärken.  $\alpha$  = Aktivitätszeit,  $\rho$  = Ruhezeit,  $\tau$  = Periode. Nach: ASCHOFF (1960).

des Tages ihre Aktivität unter natürlichen Bedingungen fällt, so ergibt sich folgende Regel für das Verhalten der Periodik unter konstanten Bedingungen (circadiane Regel): Frequenz, Aktivitätsmenge und  $\alpha:\rho$ -Verhältnis sind bei lichtaktiven Tieren positiv,

bei dunkelaktiven Tieren negativ mit der Beleuchtungsstärke korreliert. Eine Übersicht über das Verhalten von 4 dunkelaktiven und drei lichtaktiven Arten gibt Abb. 10. Sollten sich die hier geschilderten Gesetzmässigkeiten weiterhin bestätigen, so bietet die circadiane Regel eine Möglichkeit, die beiden grossen ökolo-

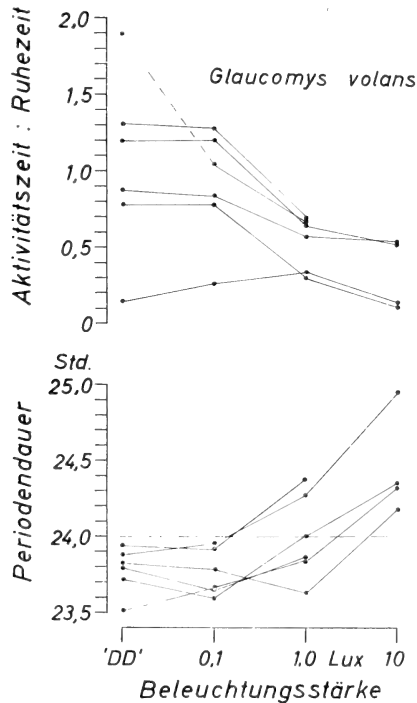


ABB. 9.

Periodendauer und Verhältnis von Aktivitäts- zu Ruhezeit bei 6 Flughörnchen, gemessen unter konstanten Bedingungen über jeweils mehrere Perioden bei vier verschiedenen Beleuchtungsstärken. („DD“: Lux-Wert nicht messbar).

gischen Tiergruppen eindeutiger als nur mit Hilfe des Aktivitäts-musters taxonomisch voneinander zu trennen. Besonders aufschlussreich wäre es in diesem Zusammenhang, solche Arten zu untersuchen, die zwischen Licht- und Dunkelaktivität wechseln. Dabei könnte es sich herausstellen, das z. B. die Feldmaus (mit den in Abb. 3 dargestellten Mustern) zu allen Jahreszeiten der circadianen Regel im Sinne der dunkelaktiven Gruppe gehorcht,

jedoch mit stark unterschiedlichen Absolutwerten für die Spontanfrequenzen im Sommer und im Winter. Die winterliche Lichtaktivität müsste in diesem Fall — in Analogie zu den in Abb. 5 dargestellten Verhältnissen — einem Zustand des Tieres mit relativ hohen Spontanfrequenzen entsprechen, die sommerliche Dunkelaktivität einem Zustand mit niedrigeren Spontanfrequenzen. (Bezüglich der theoretischen Begründung vgl. auch ASCHOFF 1964a).

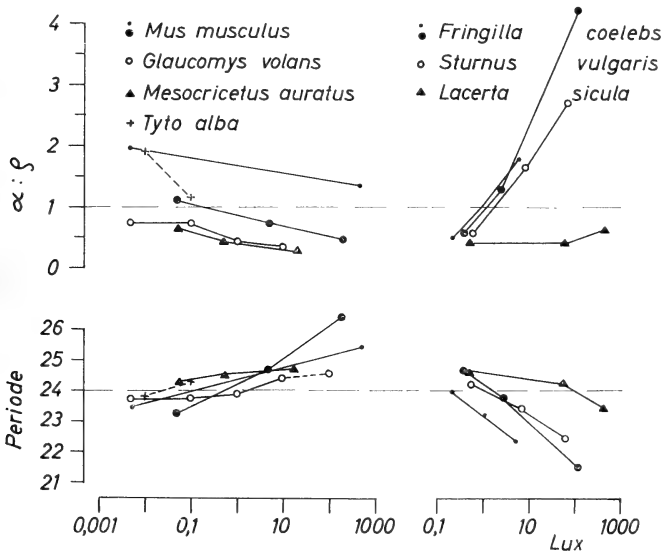


ABB. 10.

Periodendauer (unten) und Verhältnis von Aktivitäts- zu Ruhezeit (oben) in Abhängigkeit von der (jeweils konstant gehaltenen) Beleuchtungsstärke für vier dunkelaktive Arten (Hausmaus, Flughörnchen, Goldhamster, Schleiereule) und drei lichtaktive Arten (Buchfink, Star, Ruineidechse). Mittelwerte für jeweils mehrere Individuen. Aus: ASCHOFF (1963b).

### 3. Die Tagesperiodik als selbsterregte Schwingung

#### 3.1. Die Niveau-Hypothese.

Die im vorigen Kapitel angeführten Befunde beweisen, dass der Tagesperiodik bei vielen Tieren ein automatischer Prozess zugrunde liegt. Der Techniker spricht in solchen Fällen von Selbsterregung. Die Aktivitätskurven eines Tieres scheinen allerdings auf den ersten Blick wenig mit einer Schwingung im technischen Sinn

gemeinsam zu haben. Insbesondere widersprechen die Unstetigkeiten beim Wechsel zwischen Ruhe und Aktivität einer solchen Vorstellung. (Vgl. Abb. 6). Man muss jedoch annehmen, dass ein kontinuierlicher, von der Aktivitätsmessung nicht erfasster Prozess sowohl Aktivitäts- wie Ruhezeit bestimmt und damit das periodische Fortlaufen des Vorganges gewährleistet. Dieser (hypothetische) periodische Prozess wird durch eine Schwelle in zwei Teile zerlegt. Überschreitet die periodische Funktion die Schwelle im Anstieg nach oben, so setzt Aktivität ein; sie endet, wenn die Funktion nach etwa einer halben Periode die Schwelle wieder unterschreitet. Die Schwelle zerlegt damit die quantitativ variierenden Funktionswerte in zwei qualitativ verschiedene Zustände: Aktivität und Ruhe.

Jede Schwingung ist ausser durch Amplitude und Frequenz noch durch ihren Gleichwert gekennzeichnet, d.h. durch das arithmetische Mittel aller Augenblickswerte innerhalb einer Periode. Der Gleichwert biologischer Schwingungen ist Niveau genannt worden (WEVER 1962). Nimmt man an, dass das Niveau der biologischen Schwingung gegen die Schwelle verschiebbar ist, so werden die gesetzmässigen Änderungen von zwei der im vorigen Kapitel erwähnten Messgrössen erklärbar: Steigt das Niveau relativ zur Lage der Schwelle an, so wird der über der Schwelle liegende Kurvenanteil grösser, der darunter liegende kleiner. Das bedeutet: Zunahme der Aktivitätsmenge, Verlängerung der Aktivitätszeit und Verkürzung der Ruhezeit (Abb. 11, oberer Kurvenzug). Die erste Forderung zur schwingungstheoretischen Deutung der biologischen Befunde lautet demnach: Es handelt sich um eine selbsterregte Schwingung, bei der die relative Lage des Niveaus zur Schwelle eine Funktion der Beleuchtungsstärke ist. Um alle an Tieren erhobenen Befunde deuten zu können, ist weiter zu fordern, dass die Frequenz der Schwingung beleuchtungsabhängig ist (Abb. 11, mittlerer Kurvenzug). Beide Wirkungen zusammen (Abb. 11, unterer Kurvenzug) ergeben das aus dem biologischen Experiment bekannte Bild — hier dargestellt für lichtaktive Tiere. Die Abb. 11 gilt für dunkelaktive Tiere, wenn die Bezeichnungen „dunkel“ und „hell“ am oberen Abbildungsrand ausgetauscht werden.

Die Deutung der circadianen Regel mit Hilfe eines einfachen Schwingungsmodells setzt voraus, dass Niveau und Frequenz lichtabhängig sind. Das bedeutet nicht, dass das Licht auf beide

Parameter unmittelbar wirken muss. Es ist vielmehr durchaus denkbar, dass sich nur einer von ihnen mit der Beleuchtungsstärke ändert und den anderen sekundär nach sich zieht. In nicht-linearen Schwingungen, die allein bei biologischen selbsterregten Schwingungen in Betracht zu ziehen sind, stehen alle Parameter in Wechselwirkung. WEVER (1963) hat mathematisch nachweisen

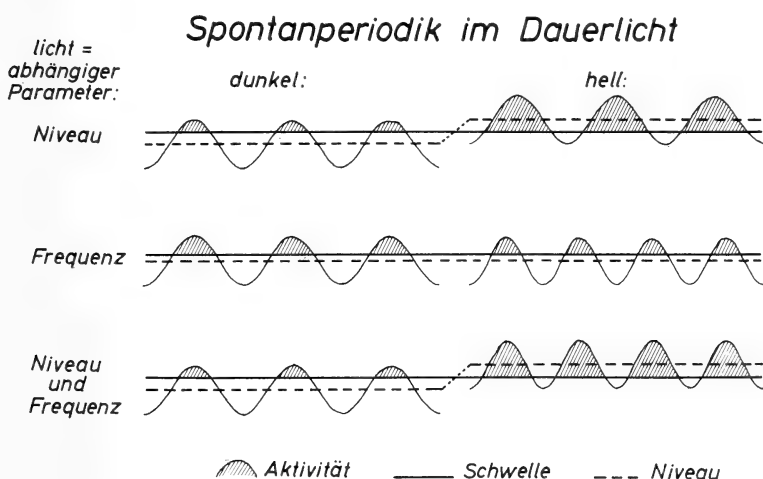


ABB. 11.

Schema der Aktivitätsperiodik eines lichtaktiven Tieres in dunklem (links) oder hellem (rechts) Dauerlicht. Schwingungsmodell, gezeichnet für drei Fälle mit den Annahmen, dass entweder nur das Niveau der Schwingung (oben), nur die Frequenz (Mitte) oder Niveau und Frequenz (unten) eine Funktion der Beleuchtungsstärke sind. Aus: ASCHOFF und WEVER (1962).

können, dass bei einer bestimmten Klasse selbsterregter Schwinger, bei denen (vergleichbar der Biologie) nur positive Funktionswerte vorkommen, die Frequenz mit steigendem Niveau anwächst. Wenn diese Befunde auf die Biologie übertragbar sind, wofür eine Reihe weiterer Übereinstimmungen sprechen, so bedeutet das, dass alle in der circadianen Regel erfassten Erscheinungen mit Angriff des Lichtes an einem Ort, dem Niveau, erklärbar werden.

### 3.2. Die Synchronisation mit dem Zeitgeber.

Die selbsterregte circadiane Periodik erfüllt ihren biologischen Sinn dann, wenn sie durch einen periodischen Vorgang der Umwelt

mit der Erddrehung synchronisiert wird (vgl. ASCHOFF 1964b). Umweltfaktoren, die eine solche Synchronisation bewirken, heissen Zeitgeber. Zeitgeber gewährleisten eine bestimmte, den Bedürfnissen des Organismus entsprechende Phasenbeziehung zwischen biologischer Periodik und Umweltperiodik; sie korrigieren die „biologische Uhr“ täglich wenigstens einmal um den kleinen Betrag, um den diese seit der letzten Korrektur zu schnell oder zu langsam gelaufen ist. Dieser Vorgang heisst in der Ausdrucksweise der Technik Phasensteuerung. Die Mechanismen, mit deren Hilfe Zeitgeber die Phase einer biologischen Periodik steuern, brauchen hier nicht erörtert zu werden. Beachtung verdient aber das Ergebnis dieses Vorganges, nämlich die Phasenbeziehungen licht- und dunkelaktiver Tiere zum Zeitgeber unter verschiedenen Bedingungen.

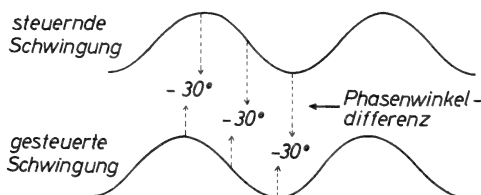
Die Phasenbeziehungen zwischen der Periodik eines Tieres und dem Zeitgeber sind Gegenstand ökologischer Untersuchungen gewesen, lange bevor die Gesetzmässigkeiten circadianer Periodik erkannt waren. Es genügt in diesem Zusammenhang an die auch vielen Laien geläufige Vogeluhr zu erinnern, d.h. an die Tatsache, dass unter natürlichen Bedingungen jede Vogelart morgens zu einer ihr eigentümlichen Zeit munter wird. Übertragen auf die Vorstellung der Periodik als synchronisierte Schwingung könnte das bedeuten: Jede Art hat eine ihr eigentümliche Phasenbeziehung zum Zeitgeber. Hierüber lässt sich genaueres sagen, da die Gesetze der Schwingungslehre auf die circadiane Periodik voll anwendbar sind (vgl. hierzu ASCHOFF 1964a). So liegt es unter anderem nahe, aus der circadianen Regel abzuleiten, welche Phasenbeziehungen zum Zeitgeber unter verschiedenen Bedingungen — etwa im Verlauf des Jahres — zu erwarten sind. Hierbei ergeben sich eine Reihe komplizierender Besonderheiten; sie lassen sich am besten an einem vereinfachten Modell erläutern.

Zwei miteinander synchronisierte Schwingungen sind nicht notwendig „phasengleich“, d.h. sie können trotz gleicher Frequenz zu verschiedenen Zeiten den Maximalwert (oder das Minimum oder eine beliebige andere Phase) der schwingenden Grösse erreichen. In Abb. 12a sind zwei solche synchrone Schwingungen eingezeichnet, von denen die obere (einem Zeitgeber entsprechend) die steuernde Schwingung sein soll. Wie der Zeichnung zu entnehmen ist, eilt die gesteuerte Schwingung der steuernden um einen kleinen Betrag voraus. Technisch ausgedrückt heisst das: Zwischen beiden



Schwingungen besteht eine Phasenwinkel-Differenz. Die Phasenwinkel-Differenz wird zwischen zwei korrespondierenden Phasen gemessen, also etwa zwischen den beiden Maxima oder zwischen den beiden Wendepunkten der Schwingungen, und wird in Bruchteilen einer ganzen Periode ausgedrückt. Dies kann in Winkel-

a) *Zwei synchronisierte Oszillatoren*



b) *Zeitgeber und Aktivitätsperiodik*

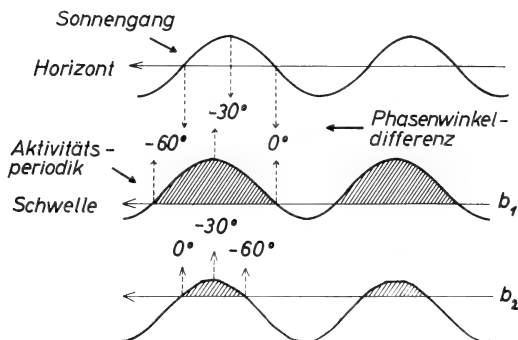


Abb. 12.

Schematische Darstellung der Phasenbeziehung zwischen zwei Schwingungen: a) Zwei Sinusschwingungen; die gesteuerte eilt der steuernden um  $30^\circ$  voraus. b) Sonne als Zeitgeber und Aktivitätsperiodik; gleiche Phasenwinkel-Differenz wie unter a). Schwingung  $b_1$  mit hohem, Schwingung  $b_2$  mit niedrigem Niveau. Weitere Einzelheiten vgl. Text. Schraffiert: Aktivität.

graden geschehen (ganze Periode =  $360^\circ$ ) oder in Zeiteinheiten (Stunden, Minuten; ganze Periode z.B. = 24 Std). Bei zwei miteinander synchronisierten Sinusschwingungen ist die Phasenwinkel-Differenz für jede beliebige zur Messung benutzte Phase dieselbe; sie beträgt im Beispiel der Abb. 12a  $-30^\circ$ . Das Vorzeichen — wird gewählt, wenn die gesteuerte Schwingung der steuernden voraus-eilt. Eilt die Phase der gesteuerten Schwingung der der steuernden

nach, so erhält die Phasenwinkel-Differenz das Vorzeichen  $+$ . Negative Phasenwinkel-Differenzen sind gemäss der Schwingungslehre ein Zeichen dafür, dass die Eigenfrequenz der gesteuerten Schwingung grösser ist als die der steuernden Schwingung; ist sie kleiner, so wird die Phasenwinkel-Differenz bei Synchronisation positiv.

Handelt es sich bei der Synchronisation nicht um zwei Sinusschwingungen sondern um das System „Zeitgeber-biologische Periodik“, so muss vor Messung der Phasenwinkel-Differenz festgestellt werden, welche Phasen als „korrespondierend“ bezeichnet werden können. In der Ökologie wie auch bei Laboratoriumsversuchen zur circadianen Periodik ist bislang bevorzugt der Beginn der Aktivität zum Sonnenaufgang in Beziehung gesetzt worden. Es lässt sich zeigen, dass dies keine echt korrespondierenden Phasen sind, d.h. dass die zwischen ihnen gemessene Phasenwinkel-Differenz nicht die wahre Phasenbeziehung zwischen Zeitgeber und biologischem Objekt wiedergibt. Näheres ergibt sich aus Abb. 12b. Die oberste der drei in Abb. 12b gezeichneten Kurven soll den Gang der Sonne symbolisieren, mit Sonnenaufgang und Sonnenuntergang beim Durchtritt der Kurve durch die horizontale Linie. Die beiden darunter gezeichneten Kurven geben, entsprechend der Darstellungsweise von Abb. 11, die Aktivitätsperiodik zweier mit dem Zeitgeber synchronisierter Tiere wieder (Aktivität schraffiert). Das Niveau der Schwingung  $b_1$  liegt über der Schwelle, das Niveau der Schwingung  $b_2$  unter der Schwelle. Der Zeichnung lässt sich unmittelbar entnehmen, dass Schwingung  $b_1$  dieselbe echte Phasenbeziehung zum Zeitgeber hat wie Schwingung  $b_2$ ; die Phasenwinkeldifferenz ist ebenso gross wie die zwischen den beiden unter a) eingezeichneten Kurven, nämlich  $-30^\circ$ . Dieser Wert ergibt sich allerdings nicht, wenn man, wie üblich, Aktivitätsbeginn und Sonnenaufgang als Bezugspunkte wählt; für  $b_1$  errechnet sich dann  $-60^\circ$ , für  $b_2$   $0^\circ$ . Ebenso widerspruchsvolle Werte liefern Aktivitätsende und Sonnenuntergang: für  $b_1$  eine Phasenwinkel-Differenz von  $0^\circ$ , für  $b_2$  eine von  $-60^\circ$ . Die richtige Phasenwinkel-Differenz von  $-30^\circ$  erhält man für Schwingung  $b_1$  wie für Schwingung  $b_2$ , wenn man die Mitte zwischen Aktivitätsbeginn und Aktivitätsende, also die Mitte der Aktivitätszeit, zur Mitte der Lichtzeit (Mitte zwischen Sonnenaufgang und Sonnenuntergang) in Beziehung setzt. (Für dunkelaktive Organismen

dient in entsprechender Weise die Mitte der Dunkelzeit als sinnvoller Bezugspunkt.) Ebenso gut oder besser eignet sich hierfür das Maximum der Schwingung; dies ist jedoch im biologischen Experiment häufig nur schwer zu bestimmen.

Die in Abb. 12 schematisch an Sinusschwingungen erläuterten Verhältnisse lassen sich sinngemäss auf beliebige Schwingungen mit einem gegen eine Schwelle verschiebbaren Niveau übertragen. Bei diesen ist allerdings die Mitte zwischen erstem und zweitem Schwellendurchtritt nicht mehr ein so sicheres Mass für die Phasenlage wie bei einer Sinusschwingung, zumal wenn mit Änderungen der Kurvenform (wie bei der Aktivitätsperiodik) zu rechnen ist. Im allgemeinen bleiben aber die Fehler, die bei der Wahl „korrespondierender Phasen“ in der Biologie unvermeidlich sind, geringer, wenn auf die Mitte zwischen Beginn und Ende statt auf einen dieser Schwellendurchtritte Bezug genommen wird. Der Grund hierfür liegt darin, dass die schwellenbedingten Fehler bei Aktivitätsbeginn und Aktivitätsende entgegengesetzte Vorzeichen haben und sich deshalb wenigstens zum Teil aufheben.

### 3.3 *Die Jahreszeiten-Regel.*

Mit der oben gegründeten Festlegung „Korrespondierender Phasen“ im Zeitgeber und in der Aktivitätsperiodik sind die Voraussetzungen dafür erfüllt, aus der circadianen Regel zwangsläufige Änderungen der Phasenwinkel-Differenz abzuleiten, die sich im Experiment prüfen lassen. Die circadiane Regel macht zwar nur Aussagen über das Verhalten der Periodik unter konstanten Bedingungen. Es ist aber zu erwarten, dass die in der Regel erfassten Gesetzmässigkeiten auch für den Zustand der Synchronisation gelten. Das bedeutet für lichtaktive Organismen: Je grösser die mittlere Beleuchtungsstärke eines Zeitgebers ist (gemittelt über Licht- und Dunkelzeit), desto höher liegt das Niveau der mit ihm synchronisierten Schwingung und desto grösser ist deren „Eigenfrequenz“. Da die Schwingung mit einem Zeitgeber synchronisiert ist, kann diese Eigenfrequenz nicht unmittelbar als „Spontanfrequenz“ gemessen werden; sie muss sich aber, gemäss den oben erwähnten Gesetzen der Schwingungslehre, mittelbar in der Phasenwinkel-Differenz bemerkbar machen. Für lichtaktive Organismen ist demnach zu erwarten, dass mit wachsender mitt-

lerer Beleuchtungsstärke des Zeitgebers positive Phasenwinkel-Differenzen kleiner, bzw. negative grösser werden.

Die mittlere Beleuchtungsstärke des natürlichen Licht-Dunkel-Wechsels ändert sich ausserhalb der Äquatorialgebiete regelmässig im Verlauf des Jahres: Im Sommer mit seinen langen (in der Arktis 24-stündigen) Lichtzeiten ist die mittlere Beleuchtungsstärke hoch, im Winter ist sie niedrig. Wenn die Gesetze der Schwingungslehre auf die circadiane Periodik anwendbar sind — wofür alle bisherigen Versuchsergebnisse sprechen — und wenn die circadiane Regel auch im Zustand der Synchronisation gilt, so müssen bei lichtaktiven Organismen im Sommer negative Phasenwinkel-Differenzen grösser (oder positive kleiner) sein als im Winter. Nach dem oben ausgeführten ist weiter zu erwarten, dass sich diese Regel an den Zeitunterschieden zwischen Aktivitätsbeginn und Sonnenaufgang nicht prüfen lässt, wohl aber, wenn man jeweils die Mitte der Aktivitätszeit zur Mitte der Lichtzeit in Beziehung setzt. Die Abb. 13 veranschaulicht schematisch die Verhältnisse. Dargestellt ist die Aktivitätsperiodik zweier lichtaktiver Organismen im Sommer (oben), Winter (unten) und in den Übergangs-Jahreszeiten (Mitte). Es ist angenommen, dass die Eigenfrequenzen beider Organismen in gleicher Weise von der Beleuchtungsstärke abhängen. Die Phase der biologischen Periodik, gemessen an der Mitte der Aktivitätszeit, eilt deshalb im Sommer bei beiden Organismen dem Zeitgeber um denselben Betrag voraus, im Winter um den gleichen Betrag nach. (vgl. die Lage der gestrichelten Linie, die die Mitten der Aktivitätszeiten verbindet, mit der der punktierten Linie). Der Darstellung von Abb. 13 liegt noch eine weitere Annahme zugrunde. Die in der linken Abbildungshälfte gezeichneten drei Diagramme versinnbildlichen einen Organismus, dessen Niveau sich nur wenig mit der Beleuchtungsstärke ändert; die rechten drei Diagramme gehören zu einer Periodik mit starker Niveauänderung. (Mit anderen Worten: Die positive Korrelation zwischen Eigenfrequenz und Niveau ist bei dem links dargestellten System schwächer als bei dem rechts dargestellten). Diese unterschiedlich starken Niveauänderungen haben zur Folge, dass sich die zwischen Aktivitätsbeginn und Sonnenaufgang gemessenen Phasenwinkel-Differenzen bei den beiden lichtaktiven Organismen im Verlauf des Jahres in genau entgegengesetzter Weise ändern: Links beginnt die Aktivität im Sommer nach,

im Winter vor Sonnenaufgang; rechts sind die Verhältnisse genau umgekehrt.

Die Abb. 13 lehrt: Werden Aktivitätsbeginn und Sonnenaufgang als Phasen zur Berechnung der Phasenwinkel-Differenz benutzt, so ergeben sich im Verlauf des Jahres keine für lichtaktive Organismen allgemein gültige Regeln. Wird dagegen die Mitte der Aktivitäts-

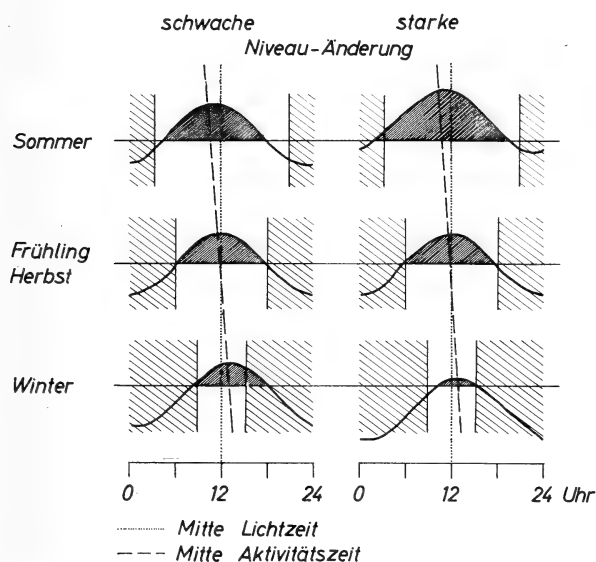


ABB. 13.

Schematische Darstellung der Aktivitätsperiodik zweier lichtaktiver Organismen und ihrer Phasenbeziehung zum Zeitgeber in verschiedenen Jahreszeiten. Dicht schraffiert: Aktivität; weit schraffiert: Dunkelzeit. Für beide Organismen ist gleiche Abhängigkeit der Frequenz von der Beleuchtungsstärke angenommen, jedoch verschieden starke Abhängigkeit des Niveaus.

zeit zur Mitte der Lichtzeit in Beziehung gesetzt, so ändern sich die daraus errechneten Phasenwinkel-Differenzen bei allen lichtaktiven Organismen im Verlauf des Jahres auch bei unterschiedlichen Niveauänderungen derart, dass mit abnehmender Lichtzeit-Dauer negative Phasenwinkel-Differenzen kleiner, bzw. positive grösser werden. Für dunkelaktive Organismen lautet diese Jahreszeiten-Regel naturgemäss umgekehrt: Eine zwischen Mitte Aktivitätszeit und Mitte Dunkelzeit gemessene negative Phasenwinkel-

Differenz wird vom Sommer zum Winter grösser, eine positive kleiner. Es gibt zwei Möglichkeiten, die Richtigkeit dieser aus der Theorie abgeleiteten Forderung zu prüfen: *a)* durch Experimente mit künstlichem Licht-Dunkel-Wechsel im Laboratorium und *b)* durch Beobachtung von Tieren unter natürlichen Bedingungen. Auf beiden Wegen sind übereinstimmende Befunde im Sinne der Regel erhoben worden.

#### 4. Die Phasenwinkel-Differenz

Die Literatur enthält zahlreiche Angaben über den Beginn der Aktivität von Tieren, gemessen an ersten sichtbaren Bewegungen, am Austritt aus Schlafhöhlen oder an ersten Lautäusserungen. Sie lassen erkennen, dass manche Arten im Verlauf des Jahres in immer etwa gleichem Zeitabstand von Sonnenaufgang bzw. Sonnenuntergang aktiv werden. Es gibt jedoch auch Arten, bei denen sich der Aktivitätsbeginn jahresperiodisch gegen Sonnenaufgang oder -untergang verschiebt. Einige dieser Änderungen scheinen — zumal in ihrer Beziehung zur zeitlichen Lage des Aktivitätsendes — Gesetzmässigkeiten zu gehorchen, die jeweils für eine Gruppe von Arten zutreffen. (vgl. hierzu ASCHOFF und WEVER 1962). Andererseits zeigt ein Überblick schnell, dass sich eine allgemein gültige Regel für die jahreszeitlichen Änderungen des Aktivitätsbeginnes nicht aufstellen lässt. In Abb. 14 ist für 15 lichtaktive Vogelarten aufgetragen, um wieviel Minuten ihr Aktivitätsbeginn vor (—) oder nach (+) dem Zeitpunkt liegt, an dem die Sonne morgens einen Stand von  $-6,5^\circ$  unter dem Horizont erreicht hat (= Ordinatenwert 0; bürgerliche Dämmerung). Jeder Punkt des Diagrammes bedeutet den Mittelwert mehrerer Messungen innerhalb eines Monates. Die Arten, bei denen sich die Phasenwinkel-Differenzen von Monat zu Monat in etwa gleicher Weise ändern, sind jeweils in einem Diagramm zusammengefasst. Die zu den 6 obersten Kurven gehörigen Arten haben im Mai/Juni stark negative bzw. nur gering positive Phasenwinkel-Differenzen; vom August an zum Winter hin verschieben sich alle in Richtung auf positive Werte. Dementgegen zeigen die vier untersten Kurvenzüge grösste Werte positiver Phasenwinkel-Differenzen für die Zeit von Mai bis Juli. Bei fünf weiteren Arten (Kurvenzüge in der Mitte von Abb. 14) bleibt schliesslich der Zeit-

abstand zwischen Aktivitätsbeginn und bürgerlicher Dämmerung das Jahr über mehr oder weniger unverändert.

Um die Mitte der Aktivitätszeit berechnen zu können, sind Angaben über Beginn und Ende der Aktivität notwendig. Sie liegen nur für wenige Arten für alle Monate des Jahres vor. Leider haben

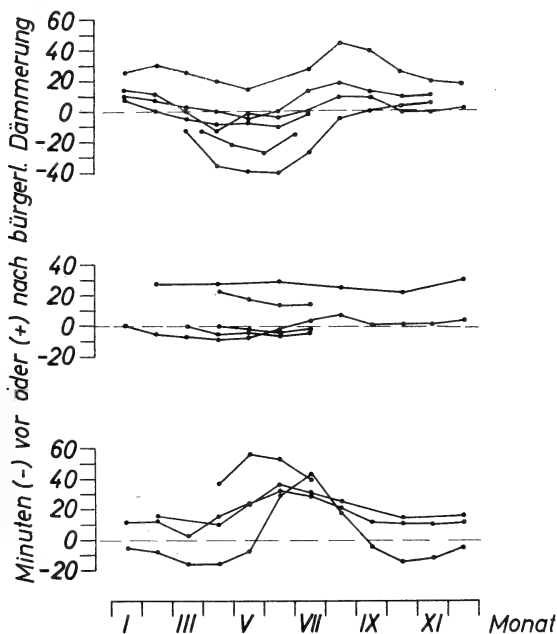


ABB. 14.

Beginn der Aktivität vor (—) oder nach (+) bürgerlicher Dämmerung am Morgen (= Sonnenstand  $-6,5^\circ$ ) bei 15 lichtaktiven Vogelarten im Verlauf des Jahres. Jeder Punkt Mittelwert mehrerer Beobachtungen innerhalb eines bzw. zweier Monate. (Nach Zahlenangaben oder Diagrammen in verschiedenen Veröffentlichungen.)

sich die Autoren meist auf die Wiedergabe von Diagrammen beschränkt. Diesen sind Zeitwerte für Beginn und Ende der Aktivität nur mit erheblicher Fehlerbreite zu entnehmen; demgemäß unsicher ist die Berechnung der Mitte der Aktivitätszeit. In Abb. 15 sind die für alle drei Bezugspunkte berechneten Phasenwinkel-Differenzen von zwei Arten als Funktion der Jahreszeit eingezeichnet. Die Diagramme zeigen den zeitlichen Abstand (in Minuten) des Aktivitätsbeginns von Sonnenaufgang (unten), des Aktivitätsendes

von Sonnenuntergang (oben) und der Mitte der Aktivitätszeit von mittags 12 Uhr (mittlere Kurvenzüge). Der Gang der Werte für die Aktivitäts-Mitte lässt zweierlei erkennen: 1) Bei beiden Arten ist die negative Phasenwinkel-Differenz im Sommer grösser als im

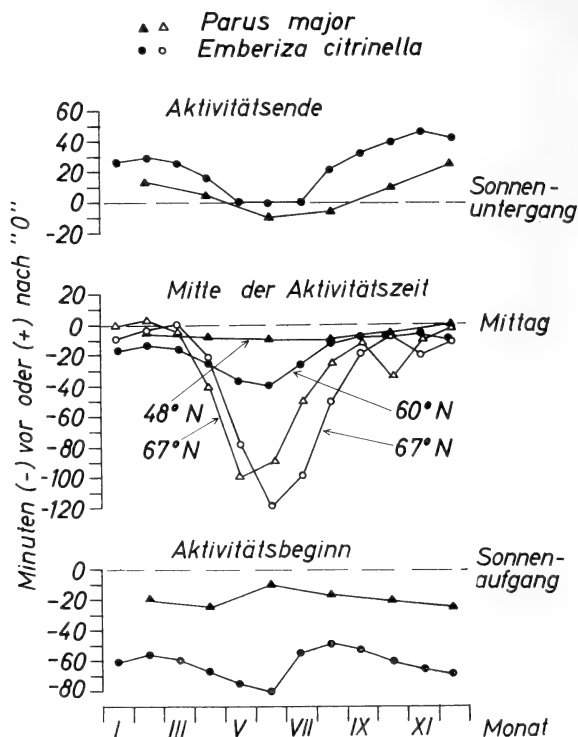


Abb. 15.

Beginn der Aktivität vor Sonnenaufgang (unten), Ende der Aktivität vor (—) oder nach (+) Sonnenuntergang (oben) und Lage der Mitte der Aktivitätszeit vor (—) oder nach (+) 12 Uhr mittags (Mitte) für zwei Vogelarten in Abhängigkeit von der Jahreszeit. Werte für die Kohlmeise auf 48° N (▲) und 67° (△) N sowie für die Goldammer auf 67° N (○) nach FRANZ (1949), für die Goldammer auf 60° N (●) nach WALLGREN (1956).

Winter; 2) In der Arktis sind die jahreszeitlichen Änderungen der Phasenwinkel-Differenz weit ausgeprägter als in mittleren Breiten. Beide Befunde bestätigen die Voraussage über den Einfluss der Lichtzeitdauer auf die Phasenwinkel-Differenz.

Zum Prüfen der Jahreszeiten-Regel genügen auch solche Beobachtungen, die sich nur über wenige Monate erstrecken,



sofern sich nur die Lichtzeit in der Beobachtungszeit um einen ausreichenden Betrag geändert hat. Weiter können Laboratoriumsexperimente herangezogen werden, in denen die Lichtzeit eines künstlichen Licht-Dunkel-Wechsels geändert worden ist. Will man die Ergebnisse von Beobachtungen auf verschiedenen Breitengraden und die Ergebnisse von Laboratoriumsversuchen in einem Diagramm zusammenfassen, so ist es sinnvoll, die errechneten Phasenwinkel-Differenzen auf jeweils gleiche Lichtzeiten zu beziehen. In einem solchen Diagramm kann folglich nicht wie in Abb. 14 und 15 die Jahreszeit als Abszisse benutzt werden. Mit Rücksicht hierauf ist in der zusammenfassenden Darstellung von Abb. 16 als Abszisse der prozentuale Anteil der Dunkelzeit am gesamten 24-stündigen Licht-Dunkel-Wechsel aufgetragen. Das linke Ende jeder der beiden Abszissen entspricht kurzen (Sommer-) Nächten, das rechte Ende langen (Winter-) Nächten. Über den Abszissen sind für mehrere lichtaktive und dunkelaktive Arten für jeweils 2 verschiedene Lichtzeiten die Phasenwinkel-Differenzen eingezeichnet und durch eine gerade Linie miteinander verbunden. Die Neigung der Geraden gibt demnach schematisch die allgemeine Richtung an, in der sich die Phasenwinkel-Differenz der betreffenden Art vom Sommer zum Winter, bzw. beim Wechsel von langer zu kurzer Lichtzeit im künstlichen Licht-Dunkel-Wechsel ändert. Die in der unteren Hälfte von Abb. 16 dargestellten Linien zeigen, wieviel Minuten vor (—) oder nach (+) Sonnenaufgang (links) bzw. Sonnenuntergang (rechts) die Aktivität beginnt. Mit kürzer werdender Lichtzeit (= Bewegung auf der Abszisse von links nach rechts) ändert sich dieser zeitliche Abstand bei jeder Art in anderer Weise. Einige Arten werden im Winter (bzw. bei langer Dunkelzeit) relativ früher rege als im Sommer (bei kurzer Dunkelzeit), bei anderen verschiebt sich der Beginn der Aktivität gerade in entgegengesetzter Richtung. Ein völlig anderes, überraschend regelhaftes Bild gewinnt man, wenn man für dieselben Arten die Mitte der Aktivität zur Mitte der Lichtzeit (links oben), bzw. zur Mitte der Dunkelzeit (rechts oben) in Beziehung setzt. (Obere Hälfte der Abb. 16). Die auf diese Weise berechneten Phasenwinkel-Differenzen ändern sich in Abhängigkeit vom Licht-Dunkel-Verhältnis bei allen lichtaktiven Arten gleichartig und entsprechend dem Verhalten von Kohlmeise und Goldammer in Abb. 15, also in voller Übereinstimmung mit der schwingungstheoretischen Vorausage.

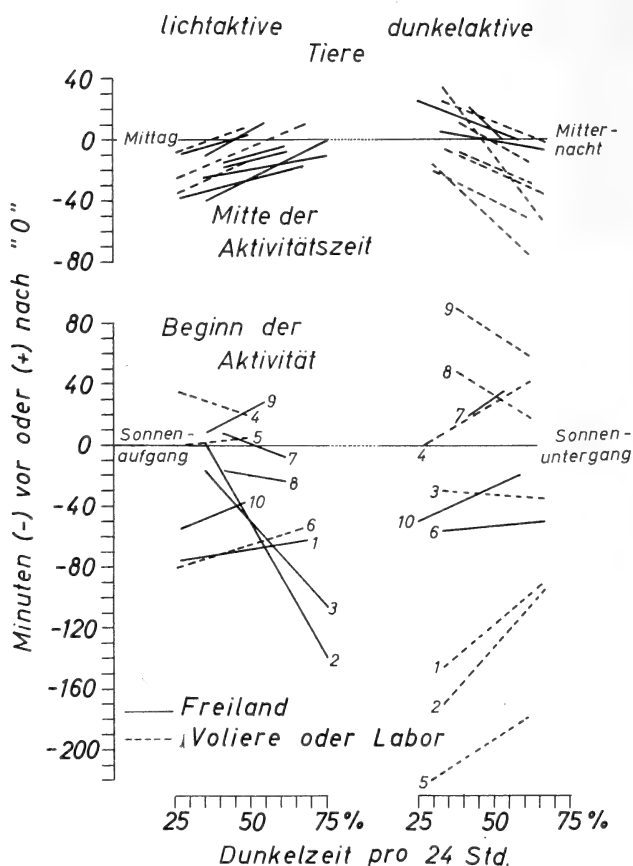


ABB. 16.

Beginn der Aktivität vor (—) oder nach (+) Sonnenaufgang (links unten) bzw. Sonnenuntergang (rechts unten) und Lage der Mitte der Aktivitätszeit vor (—) oder nach (+) Mittag (links oben) bzw. Mitternacht (rechts oben) von 10 lichtaktiven und 10 dunkelaktiven Arten bzw. Familien. Die von jeder Art für jeweils zwei verschiedene Licht-Dunkel-Verhältnisse berechneten Werte sind durch eine gerade Linie miteinander verbunden. Lichtaktive Arten: 1) *Emberiza citrinella* (WALLGREN 1956); 2) *Emberiza citrinella* (FRANZ 1949); 3) *Parus major* (FRANZ 1949); 4) *Fringilla montifringilla* (PALMGREN 1949); 5) *Chloris chloris* (PALMGREN 1943); 6) *Erithacus rubecula* (PALMGREN 1949); 7) *Dryobates major* (HINDE 1952); 8) *Parus caeruleus* (FRANZ 1949); 9) *Sitta pygmaea* (NORVIS 1957/1959); 10) *Turdus ericetorum* (MARPLES 1939). Dunkelaktive Arten: 1) *Mus musculus* (ZOLLHAUSER 1958); 2) *Mus musculus* (weiss) (ZOLLHAUSER 1958); 3) *Sylvaenus (Apodemus) sylvaticus* (ZOLLHAUSER 1958); 4) *Carausius morosus* (EIDMANN 1956); 5) *Mus musculus* (ASCHOFF U. MEYER-LOHMANN 1954); 6) *Sylvaenus sylvaticus* (BROWN 1956); 7) *Noctuidae* (LARSEN 1943); 8) *Clethrionomys glareolus* ♀ (SAINT-GIRONS 1961); 9) *Clethrionomys glareolus* ♂ (SAINT-GIRONS 1960); 10) *Strix aluco* (HANSEN 1952).

Dasselbe gilt für die dunkelaktiven Arten, deren Phasenwinkel-Differenzen in entgegengesetzter Weise wie die der lichtaktiven Arten mit dem Licht-Dunkel-Verhältnis korreliert sind.

### SCHLUSS

Aus der im 2. Kapitel erläuterten „circadianen Regel“ über das Verhalten lichtaktiver und dunkelaktiver Tiere ist im 3. Kapitel die „Jahreszeiten-Regel“ abgeleitet. Sie macht Aussagen über die Phasenbeziehungen zwischen biologischem Objekt und Zeitgeber, insbesondere über deren Änderungen bei Änderung des Licht-Dunkel-Verhältnisses des Zeitgebers. Das 4. Kapitel bringt Beispiele aus der Literatur, die die Voraussagen bestätigen. Die zur Prüfung der Regel benutzten Zahlen sind Arbeiten entnommen, deren Autoren die hier vertretene Hypothese nicht gekannt und die ihre Untersuchungen unter anderen Gesichtspunkten angestellt haben. Umso eindrucksvoller ist die Tatsache, dass sich diese Werte zu einem Bild zusammenfügen, das für eine allen gemeinsame jahreszeitliche Gesetzmässigkeit spricht. Die bei allen lichtaktiven und bei allen dunkelaktiven Arten jeweils übereinstimmenden Änderungen einer Messgrösse, die sich aus der Niveauhypothese der circadianen Periodik herleitet, sprechen einmal für die Richtigkeit dieser Hypothese und zum anderen für die Berechtigung des Versuches, „lichtaktiv“ und „dunkelaktiv“ an Hand der circadianen Regel zu definieren.

Andererseits ist daran zu erinnern, dass viele der Zahlen, auf denen die Diagramme der entscheidenden Abb. 16 beruhen, unsicher sind (Entnahme aus Diagrammen; grobe Mittelungen). Die Literatur enthält ausserdem sicher noch mehr geeignete Angaben, als hier verwandt worden sind; die Diagramme stellen also eine Auswahl dar. Erneute Prüfung der Voraussagen mit genauen, eigens hierfür gewonnenen Messwerten ist deshalb erwünscht. Dabei wäre auf zwei Zusammenhänge getrennt zu achten: *a)* Die Korrelation zwischen Dauer der Aktivitätszeit (als Mass für das Niveau) und der Phasenwinkel-Differenz, über die die circadiane Regel Aussagen macht; *b)* Die Korrelation zwischen Dauer der Lichtzeit und Dauer der Aktivitätszeit bzw. Phasenwinkel-Differenz, die in der Jahreszeiten-Regel behandelt ist. Über beide Regeln ist vermutlich das letzte Wort noch nicht

gesprochen, und Modifikationen sind wahrscheinlich. Besonders im Hinblick auf die Jahreszeiten-Regel ist zu erwarten, dass sich andere Vorgänge — z. B. solche, die in Verbindung mit Brunstzeiten stehen — den von der Regel geforderten überlagern. (Lange Aktivitätszeiten und stark negative Phasenwinkel-Differenzen auf Grund hohen Niveaus bei manchen Vögeln im Frühjahr!). Die bereits vorliegenden Ergebnisse, die die Regel stützen, sind jedoch vielversprechend genug, um weitere Untersuchungen in dieser Richtung zu rechtfertigen.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die Begriffe „lichtaktiv“ und „dunkelaktiv“ sind nicht immer eindeutig. Manche Arten wechseln zwischen Licht- und Dunkelaktivität im Verlauf des Jahres oder der Ontogenese (Abb. 3 und 4), andere bereits bei geringfügiger Änderung der Umgebungsbedingungen (Abb. 5). Daraus ergibt sich der Wunsch, die beiden Begriffe eindeutiger zu definieren und ihnen physiologische Bedeutung zu geben. Grundlage hierfür ist das Verhalten der selbst-erregten „circadianen“ Periodik unter konstanten Bedingungen, das sich in folgende Regel fassen lässt: Frequenz und Niveau (gemessen am Verhältnis von Aktivitätszeit zu Ruhezeit) der circadianen Schwingung sind bei lichtaktiven Tieren positiv, bei dunkelaktiven Tieren negativ mit der Beleuchtungsstärke korreliert. (Abb. 7 und 10). Eine Reihe von Befunden spricht dafür, dass diese circadiane Regel sinngemäss auch dann gilt, wenn die biologische Periodik mit einem periodischen Vorgang der Umwelt — einem Zeitgeber — synchronisiert ist; Änderungen der „Frequenz“ machen sich dann in Änderungen der Phasenbeziehung zum Zeitgeber bemerkbar. Diese Beziehungen gehorchen den Gesetzen der Schwingungslehre.

Als Mass der spezifischen Phasenbeziehung einer Tierart zum Zeitgeber ist vielfach der zeitliche Abstand zwischen Beginn der Aktivität und Sonnenaufgang bzw. Sonnenuntergang benutzt worden. Es lässt sich zeigen, dass es sinnvoller ist, die Mitte zwischen Beginn und Ende der Aktivität zur Mitte der Lichtzeit (bei lichtaktiven Arten) bzw. zur Mitte der Dunkelzeit (bei dunkelaktiven Arten) in Beziehung zu setzen (Abb. 12). Aus der circadianen Regel lassen sich Forderungen ableiten, wie sich die so berechnete

„Phasenwinkel-Differenz“ im Verlauf des Jahres (oder bei künstlicher Änderung des Licht-Dunkel-Verhältnisses des Zeitgebers) ändern muss: Bei lichtaktiven Tieren eilt die Phase der biologischen Periodik der des Zeitgebers im Sommer stärker voraus als im Winter; bei dunkelaktiven Tieren verläuft die Bewegung umgekehrt (Abb. 13).

Diese Voraussage lässt sich an Hand von Veröffentlichungen prüfen, die Angaben über Beginn und Ende der Aktivität verschiedener Tierarten enthalten. Berechnet man aus diesen Werten die Mitte der Aktivitätszeit und bestimmt für zwei verschiedene Jahreszeiten die Phasenwinkel-Differenz zur Mitte der Lichtzeit (oder der Dunkelzeit) so zeigt sich, dass sich diese Werte innerhalb der beiden grossen ökologischen Gruppen jeweils in gleicher Weise und in guter Übereinstimmung mit der Voraussage ändern (Abb. 16).

### RÉSUMÉ

Les notions de l'activité diurne et nocturne chez les animaux ne sont pas toujours bien définies. Certaines espèces passent d'un type d'activité à l'autre au cours de l'année ou pendant l'ontogénèse (fig. 3 et 4), d'autres le font déjà en réponse à de faibles modifications du milieu extérieur (fig. 5). Il importe de préciser ces notions et leur signification physiologique.

Cette précision doit se fonder sur les propriétés de la périodicité « circadienne » endogène que montre l'animal dans une ambiance constante. Elles obéissent aux règles suivantes: La fréquence et le niveau (mesuré par le rapport entre la durée de l'activité et celle du repos) de l'oscillation « circadienne » augmentent avec l'intensité lumineuse chez les animaux diurnes et diminuent chez les animaux nocturnes (fig. 7 et 10). Cette règle s'applique également si le rythme endogène est synchronisé avec un événement périodique de l'environnement. Une modification de la fréquence de l'oscillation correspond alors à une modification des rapports entre les phases de l'animal d'une part et du stimulus périodique (« Zeitgeber ») d'autre part. Les rapports en question obéissent aux lois de la théorie des oscillations.

Le rapport entre les deux phases a souvent été mesuré par la différence entre l'heure du début de l'activité et celle du lever

resp. du coucher du soleil. Mais on peut démontrer qu'il est préférable de comparer le point médian entre le début et la fin de l'activité à celui du temps d'éclairement resp. d'obscurité (fig. 12). Il résulte de la règle énoncée ci-dessus que la différence entre les phases d'activité et de repos doit se modifier au cours de l'année ou lorsque changent les temps de lumière et d'obscurité d'un cycle d'éclairement artificiel (fig. 13). Cette prédiction est confirmée par les données publiées sur les cycles d'activité de différentes espèces diurnes et nocturnes.

#### SUMMARY

With regard to animals, the terms "light-active" and "dark-active" are not always unequivocal. Some species change from light- to dark-activity with the season or during ontogeny (fig. 3 and 4), others as a result of minor changes in environmental conditions (fig. 5). Such findings call for a more precise definition, provided with physiological significance. The basis for such an attempt is given by the properties of the endogenous (self-sustained) "circadian" oscillation which can be summarized as follows: Frequency and level (determined by the ratio of activity-time to rest-time) of the circadian oscillation increases with increasing light intensity in light-active animals and decreases in dark-active animals (fig. 7 and 10). This rule is also valid when the biological periodicity is synchronized with a periodic factor in the environment (= Zeitgeber). Under such circumstances, changes in "frequency" manifest themselves as changes of the phase relation to the Zeitgeber. These changes obey to the laws of oscillation theory.

To measure the phase relation (phase-angle-difference) between Zeitgeber and biological oscillation, the difference between the onset of activity and sunrise, or sunset resp., has often been used. It can be shown, however, that it is more meaningful to compare the midpoint between onset and end of activity with the midpoint of light-time or dark-time (fig. 12). According to the "circadian rule", this phase-angle-difference should change in the course of the year (or as a result of changes of an artificial light-dark-cycle) as follows: In light-active animals, the phase of the biological oscillation should be more in advance in relation to the phase of

the Zeitgeber in Summer (long light-times) than in winter (short light-times); for dark-active animals, the opposite should be true (fig. 13). These predictions are confirmed by data published on activity cycles of various light- and dark-active animals (fig. 16).

## LITERATUR

- ASCHOFF, J. 1960. *Exogenous and endogenous components in circadian rhythms*. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 25: 11-28.
- 1962. Spontane lokomotorische Aktivität. Hdb. d. Zoologie VIII, 11 (4): 1-74.
- 1963a. Comparative physiology: Diurnal rhythms. Ann. Rev. Physiol. 25: 581-600.
- 1963b. Gesetzmässigkeiten der biologischen Tagesperiodik. Dtsch. med. Wschr. 88: 1930-1937.
- 1964a. Biologische Periodik als selbsterregte Schwingung. Schriften Arbeitsgem. Forsch. Nordrhein-Westfalen (im Druck).
- 1964b. Survival value of diurnal rhythms. Proc. Zool. Soc. London (im Druck).
- DIEHL, I., GERECKE, U., u. WEVER, R., 1962. Aktivitätsperiodik von Buchfinken (*Fringilla coelebs* L.) unter konstanten Bedingungen. Z. vergl. Physiol. 45: 605-617.
- u. MEYER-LOHMANN, J., 1954. Die 24-Stunden-Periodik von Nagern im natürlichen und künstlichen Belichtungswechsel. Z. Tierpsychol. 11: 476-484.
- u. WEVER, R., 1962. Beginn und Ende der Aktivität freilebender Vögel. J. f. Ornithol. 103: 2-27.
- BROWN, L. E., 1956. Field experiments on the activity of the small mammals *Apodemus*, *Clethrionomys* and *Microtus*. Proc. Zool. Soc. London 126: 549-564.
- CROWCROFT, P., 1954. The daily cycle of activity in british shrews. Proc. Zool. Soc. London. 123: 715-729.
- EIDMANN, H., 1956. Über rhythmische Erscheinungen bei der Stabheuschrecke *Carausius morosus* Br. Z. vergl. Physiol. 38: 370-390.
- ERKINARO, E., 1961. The seasonal change of the activity of *Microtus agrestis*. Oikos 12: 157-163.
- FRANZ, J., 1949. Jahres- und Tagesrhythmus einiger Vögel in Nordfinnland. Z. Tierpsychol. 6: 309-329.
- GRAEFE, G., 1961. Die Aktivitätsperiodik des Flughörnchens, *Glaucomys volans* (LINNAEUS 1758), und des Backenhörnchens, *Tamias striatus* (LINNAEUS 1758). Z. Tierpsychol. 18: 84-90.

- HALBERG, Fr., 1959. *Physiologic 24-hour periodicity in human beings and mice, the lighting regimen and daily routine*. In: *Photoperiodism and related phenomena in plants and animals*, ed. WITHROW (Washington, A.A.A.S.), 803-878.
- HAMILTON, W. J. jr., 1937. *Activity and home range of the field mouse, Microtus pennsylvanicus pennsylvanicus* (Ord.). *Ecology* 18: 255-263.
- HANSEN, L., 1952. *The diurnal and annual rhythm of the tawny owl (Strix aluco L.)*. *Dansk. ornithol. For. Tids.* 46: 158-172.
- HINDE, R. A., 1952. *The behaviour of the great tit (Parus major) and some other related species*. *Behaviour*, Suppl. 2: 1-201.
- LARSEN, E. B., 1943. *The importance of master factors for the activity of noctuids: Studies of the activity of insects I*. *Entomol. Meddel.* 23: 352-374.
- MARPLES, G., 1939. *Some notes on the diurnal song of birds*. *British Birds* 33: 4-11.
- MATUTANI, K., and MORI, S., 1949. *Daily rhythmic activity of al and snail, Fructicicola (Acusta) sieboldiana*. *Jap. J. Malacol. (Venus)* 15: 96-102.
- NORVIS, R., 1957/1959. *Comparative biosystematics and life history of the nuthatches Sitta pygmaea and Sitta pusilla*. *Univ. Calif. Publ. Zool.* 56: 115-300.
- PALMGREN, P., 1943. *Zur Tagesrhythmik der Finkenvögel*. *Orn. fenn.* 20: 99-103.
- 1949. *Studien über die Tagesrhythmik gekäfigter Zugvögel*. *Z. Tierpsychol.* 6: 44-86.
- PITTENDRIGH, C. S., 1958. *Perspectives in the study of biological clocks*. In: *Symp. Perspectives Mar. Biol.* (Univ. Calif. Press., Berkeley), 239-268.
- SAINT-GIRONS, M. Ch., 1960. *Le rythme nyctéméral d'activité du campagnol roux, Clethrionomys glareolus* (Schreber) 1780. I. *Les mâles*. *Mammalia* 24: 516-532.
- 1961. *Le rythme nyctéméral d'activité du campagnol roux Clethrionomys glareolus* (Schreber) 1780. II. *Les femelles*. *Mammalia* 25: 342-357.
- WALLGREN, H., 1956. *Zur Biologie der Goldammer, Emberiza citrinella L.* *Acta Soc. Faun. Flor. Fenn.* 71, Nr. 4.
- WEVER, R., 1962. *Zum Mechanismus der biologischen 24-Stunden-Periodik*. I. *Mitteilung. Kybernetik* 1: 139-154.
- 1963. *Zum Mechanismus der biologischen 24-Stunden-Periodik*. II. *Mitteilung. Kybernetik* 1: 213-231.
- ZOLLHAUSER, M., 1958. *Versuche über Ruhe- und Aktivitätsperioden bei verschiedenen Mäusearten*. *Z. vergl. Physiol.* 40: 642-663.



N<sup>o</sup> 25. **K. Deuchler.** — Neue Fledermausfunde aus Graubünden.

Zoologisches Museum der Universität Zürich.

Als einzige Fledermaus des Schweizerischen Nationalparks im Unterengadin war bis vor kurzem lediglich ein Exemplar der Nordfledermaus (*Eptesicus nilssoni* Keyserling und Blasius) bekannt, das im August 1934 zufällig in der Val Cluozza gefunden worden ist. Im Rahmen einer Untersuchung der Kleinsäuger des Nationalparks und seiner Umgebung versuchte ich im Sommer 1963 weitere Fledermäuse nachzuweisen. Im Fuorngebiet fing ich mit Hilfe eines Japannetzes an zwei Wasserstellen auf 1780 und 1950 m Höhe, wo regelmässig Fledermäuse trinken und jagen, drei Arten, nämlich das Langohr (*Plecotus auritus* L.), die Zweifarbfledermaus (*Vespertilio discolor* Kuhl) und die Nordfledermaus. Während ich die beiden erstgennanten Arten nur in je einem Exemplar feststellte, fing ich die Nordfledermaus mehrmals in verschiedenen Exemplaren, einmal elf während einer Nacht.

Ausserhalb des Parkes suchte ich im Engadin Gebäude nach Fledermäusen ab. Im Schiff der Kirche von S-chanf (1662 m) entdeckte ich eine Kolonie der Nordfledermaus, die ungefähr dreissig Tiere umfasste und sich versteckt zuoberst im Dachfirst unter der Holzverkleidung aufhielt. Es gelang, ein Weibchen als Beleg zu fangen. Auf Grund von über dreissig Exemplaren aller Altersstufen, die vertrocknet auf dem Dachboden herumlagen, wurde klar, dass es sich um eine Wochenstube handelte. Das jüngste Tier hatte eine Unterarmlänge von nur 16 mm. Nach dem vorhandenen Kot und den faustgrossen Urinstalaktiten zu schliessen, ist die Kolonie nicht neu. Soweit mir bekannt ist, scheint das die erste Wochenstube der Nordfledermaus zu sein, die aus Mitteleuropa bekannt geworden ist.

Auch im Münstertal, einem Wärmetal, das sich im Osten an den Nationalpark anschliesst und zum Stromgebiet der Etsch gehört, wurde nach Fledermäusen gesucht. Im obersten Dorf des Tales, in Tscherv (1660 m), besteht in der Kirche eine kleine

Wochenstube von *Plecotus auritus*, dem Gewöhnlichen Langohr. Im nächst tiefer gelegenen Fuldera (1638 m) fand ich in der Kirche neben dem Gewöhnlichen Langohr vereinzelt das Graue Langohr (*Plecotus austriacus* Fischer). Weiter unten im Tal, in Sta. Maria (1380 m) und in Münster (1280 m), stellte ich in den Kirchen zwei reine Kolonien des Grauen Langohrs von je ungefähr zwanzig Exemplaren fest. Im Münstertal scheint diese Art, die bis heute nur vereinzelt von AELLEN (mündliche Mitteilung) in der Westschweiz gefunden worden ist, einen festen Bestandteil der Schweizerfauna zu bilden. Im benachbarten Vinschgau stiess ich ebenfalls auf reine Kolonien des Grauen Langohrs. Verglichen mit den Angaben in der Literatur zeigen diese Populationen relativ kleine Körper- und Schädelmasse. Eine sichere Unterscheidung gegenüber dem Gewöhnlichen Langohr ermöglichten Fellfarbe, Grösse der Bullae tympani und besonders augenfällig Form und Grösse des Penis-knochens.

#### RÉSUMÉ

L'auteur a capturé au centre du Parc national suisse (Fuorn) trois espèces de Chauves-souris: *Eptesicus nilssoni* Keys. et Bl., *Plecotus auritus* L. et *Vespertilio discolor* Kuhl. Il signale en outre la présence jusqu'à Fuldera, Val Munster, de *Plecotus austriacus* Fischer.

#### SUMMARY

The author has caught three species of bats in the middle of the Swiss National Park (Il Fuorn): *Eptesicus nilssoni* Keys. and Blas., *Plecotus auritus* L. and *Vespertilio discolor* Kuhl. The presence of *Plecotus austriacus* Fischer has been observed as far as Fuldera in Val Müstair.

#### LITERATUR

- BAUER, K., 1960. *Die Säugetiere des Neusiedlerseegebietes*. Bonn. zool. Beitr. 11: 141-344.  
 BAUMANN, F., 1949. *Die freilebenden Säugetiere der Schweiz*. Bern.  
 TOSCHI, A., und LANZA, B., 1959. *Mammalia. Fauna d'Italia* 4. Bologna.
-

Nº 26. **R. Eigenmann**, Basel. — Biochemische Untersuchungen der Flugmuskelentwicklung von *Antheraea pernyi* Guér. (*Lep.*). (Mit 3 Textabbildungen und einer Tabelle.)

Zoologische Anstalt der Universität Basel.

## 1. EINLEITUNG

Physiologische Untersuchungen von NÜESCH (1962) zeigten, dass der Insektenmuskel relativ früh in der Imaginalentwicklung auf gesetzte Reize hin zu reagieren vermag. Diese Resultate waren der Anlass, die Muskelentwicklung in der Puppe etwas näher zu untersuchen und zwar auf histologischer wie auch auf biochemischer Grundlage. Die folgende Arbeit beabsichtigt, einige Resultate der Biochemie der Flugmuskelentwicklung, vor allem die Frage nach dem Auftreten des kontraktiven Muskelproteins Aktomyosin zu umschreiben und mit den wichtigsten histologischen Differenzierungen zu vergleichen.

## 2. MATERIAL UND METHODE

Als Untersuchungsobjekt diente mir *Antheraea pernyi*, das chinesische Nachtpfauenaug, das sich leicht auf Eichenlaub züchten lässt. Die Entwicklungszeit von der Diapausenpuppe zur geschlechtsreifen Imago beträgt 21 Tage.

Zur Extraktion von Aktomyosin wird nach Angaben von PORTZEHL eine 0,6 m KCl-Lösung verwendet, die mit 0,02 m  $\text{NaHCO}_3$  auf pH 7 eingestellt ist. Die aus dem Thorax von *A. pernyi* herauspräparierten Muskeln werden sofort in die auf 0° C bereitgehaltene Extraktionslösung gegeben. Für einen Versuch werden mindestens 0,2 g Muskelsubstanz benötigt. Diese Menge liefern zwei Imagines, bei jüngeren Stadien braucht es bis 15 Tiere. Das Verhältnis Muskelsubstanz zu Extraktionslösung ist 1 zu 12. Die Muskeln werden im Tissue Grinder in der Extraktionslösung zermalmt, bis die Myofibrillen sowohl in der Länge als auch in ihrem Durchmesser zertrümmert sind (2—4 Min.).

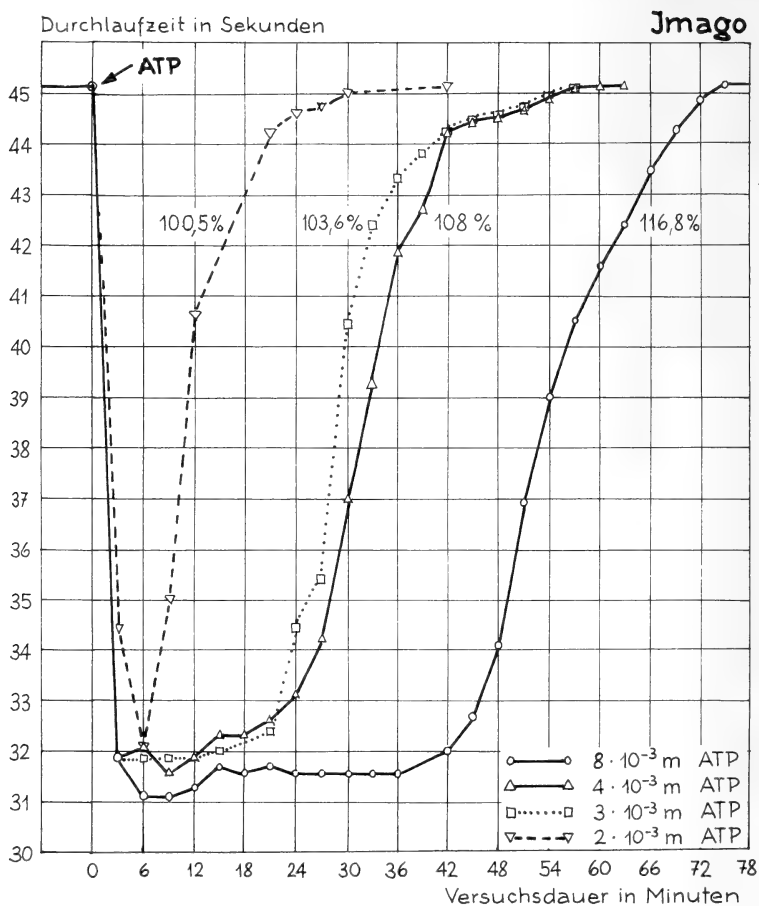


ABB. 1.

Viskositätserniedrigung auf Zusatz von ATP verschiedener Konzentration zum gleichen Muskelextrakt.

Während der 18-stündigen, bei 0° C ausgeführten Extraktion soll der Extrakt etwa jede Stunde leicht geschüttelt werden. Nach der Extraktion wird das Muskelhomogenat bei 0° C und 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und die überstehende, die löslichen Proteine enthaltende Flüssigkeit von den sedimentierten, unlöslichen Überresten und sonstigen Verunreinigungen (wie Fettkörper usw.) abdekantiert. Der Extrakt ist damit für die viskosimetrischen Messungen bereit.

## 3. VISKOSIMETRISCHE MESSUNGEN

Die interessanteste Eigenschaft des Aktomyosin ist sein Verhalten gegenüber Adenosintriphosphat (ATP). Gibt man ATP zu einer Lösung von Aktomyosin von geeigneter Ionenstärke, nimmt ihre Viskosität sehr rasch ab. Dieser erreichte Wert bleibt bei geeigneter ATP-Konzentration 20—30 Minuten erhalten. Darauf steigt die Viskosität wieder allmählich zum ursprünglichen Wert auf. Diese Reaktion ist so spezifisch, dass sie zum qualitativen Nachweis des Aktomyosin verwendet werden kann. ATP bewirkt offenbar eine Spaltung des Komplexes in seine Komponenten Myosin und Aktin. Das Myosin aber spaltet das ATP, sodass dessen Wirkung je nach verabreichter Quantität verschieden rasch abnimmt.

Auf Grund dieses Verhaltens untersuchte ich den Verlauf der Viskositätsänderung von Muskelextrakten vor und nach Zusatz von ATP. Zur Messung diente ein Viskosimeter nach SCHACHMANN mit einem relativ grossen Kapillarendurchmesser von ca 1 mm (Methode nach PORTZEHL et al. 1950 und persönlichen Mitteilungen von Frau Dr. PORTZEHL).

Abbildung 1 zeigt den brüsken Abfall der Viskosität auf Zugabe von ATP, der sich in stark verkürzter Durchlaufzeit durch das Viskosimeter ausdrückt. Diese Werte ermöglichen die Berechnung der Viskositätszahl  $Z_\eta$  vor und nach Zusatz von ATP zum Extrakt.

Aus diesen beiden Viskositätszahlen  $Z_\eta$  und  $Z_{\eta\text{ATP}}$  kann ein weiterer Wert berechnet werden: die Empfindlichkeit des Extraktes gegenüber ATP. Sie gibt an, um wieviel % die Viskosität vor ATP-Zusatz grösser ist als nachher. Die Berechnung der ATP-Empfindlichkeit erfolgt nach der Formel:

$$\text{ATP-Empf. in \%} = \frac{Z_\eta - Z_{\eta\text{ATP}}}{Z_{\eta\text{ATP}}} \cdot 100 \quad (4)$$

## 4. RESULTATE

Die Untersuchung von Muskelextrakten aus Puppen verschiedenen Alters ergibt die folgenden Werte der ATP-Empfindlichkeiten, die in Tabelle 1 zusammengestellt sind. Für den fertigen

Muskel wurde im Mittel etwa 104% erhalten. Je jüngere Stadien aus der im ganzen 21 Tage dauernden Imaginalentwicklung untersucht werden, umso geringer ist die Empfindlichkeit des Extraktes auf ATP.

TABELLE 1.

Viscositätszahlen vor ( $Z_\eta$ ) und nach ( $Z_{\eta\text{ATP}}$ ) ATP-Zusatz und ATP-Empfindlichkeit vom 8. Entwicklungstag nach Diapause bis zur Imago (siehe Text).

Stadium	Anzahl	Variation		Mittel
Imago	8	$Z_\eta$	0,6739 - 1,0764	104,19 %
		$Z_{\eta\text{ATP}}$	0,3178 - 0,5451	
		Empf. %	88,75 - 116,80	
15	3	$Z_\eta$	0,5497 - 0,7636	85,06 %
		$Z_{\eta\text{ATP}}$	0,299 - 0,4094	
		Empf. %	84,0 - 86,6	
12	2	$Z_\eta$	0,5658 - 0,5658	58,4 %
		$Z_{\eta\text{ATP}}$	0,345 - 0,3703	
		Empf. %	52,8 - 64,0	
9	6	$Z_\eta$	0,4646 - 0,7958	12,9 %
		$Z_{\eta\text{ATP}}$	0,3967 - 0,7107	
		Empf. %	10,62 - 22,9	
8	3	$Z_\eta$	0,6555 - 0,8924	0 %
		$Z_{\eta\text{ATP}}$	0,6555 - 0,8924	
		Empf. %	0	

Ein Vergleich der durch die viskosimetrischen Messungen erhaltenen ATP-Empfindlichkeiten lässt deutlich den schnellen Anstieg von 0% am 8. Entwicklungstag bis 87% am 15. Tag erkennen (Abbildung 2). In dieser Zeit müssen sich also im sich entwickelnden Muskel die Vorgänge abspielen, die aus einer mehr oder weniger undifferenzierten Anlage einen vollentwickelten und funktionstüchtigen Muskel hervorgehen lassen. Vergleichen wir die ATP-Empfindlichkeiten mit den wichtigsten Schritten der histologischen Differenzierung, so kann man festhalten, dass das Auftreten erster definierbarer Myofibrillen am 9. Tag mit dem erst-

maligen Nachweis von Aktomyosin zusammenfällt. Diese Myofibrillen weisen jedoch noch keine Querstreifung auf; diese kann erst am 10. Entwicklungstag nachgewiesen werden.

Die ATP-Empfindlichkeiten sind unabhängig von der zum Extrakt gegebenen Konzentration der ATP-Lösung, wie dem in

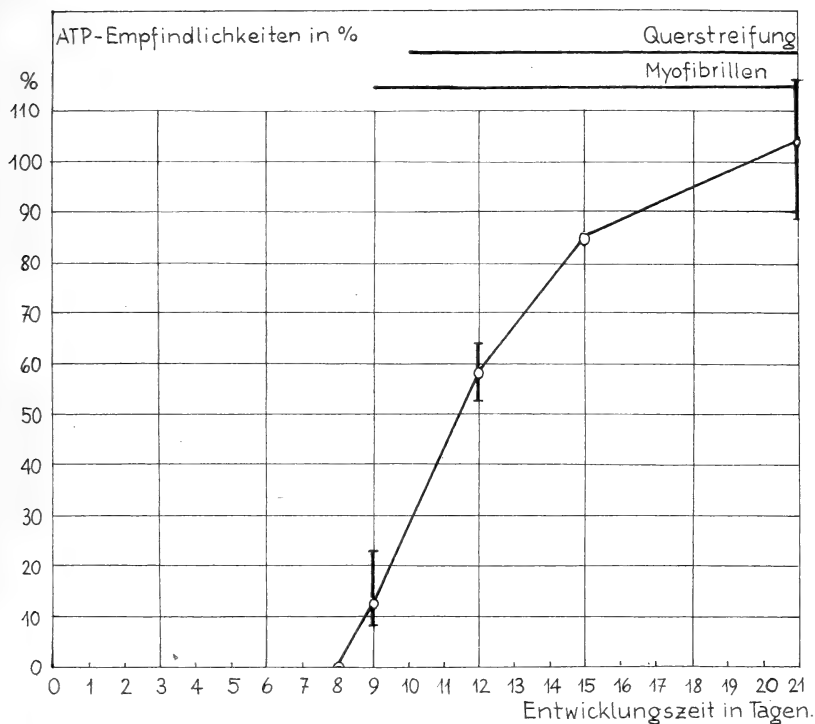


Abb. 2.

Zunahme der ATP-Empfindlichkeit im Verlauf der Entwicklung, verglichen mit dem Auftreten von Myofibrillen und Querstreifung.

Abbildung 1 dargestellten Versuch entnommen werden kann. Dem Muskelextrakt wurden  $8 \cdot 10^{-3}$ ,  $4 \cdot 10^{-3}$ ,  $3 \cdot 10^{-3}$  und  $2 \cdot 10^{-3}$  m ATP-Lösungen beigelegt. Die ATP-Empfindlichkeiten bleiben ungefähr dieselben, d.h. sie bleiben im Variationsbereich (88,75—116,8%) der für Imagines erhaltenen Werte. Der einzige Unterschied besteht in der Zeit, die gebraucht wird, bis die ATP-Mengen gespalten sind und die Viskositäten wieder auf den ursprünglichen Wert ansteigen.

Aus den ATP-Empfindlichkeiten kann wohl der Schluss gezogen werden, dass die Aktomyosinmengen im Verlaufe der Entwicklung zunehmen, jedoch kann die Menge nicht quantitativ nachgewiesen werden. Es besteht aber die Möglichkeit, wenigstens den Gesamteiweissgehalt der Muskeln quantitativ zu erfassen, indem der Stickstoffgehalt bestimmt wird. Die Stickstoffbestimmungen wurden

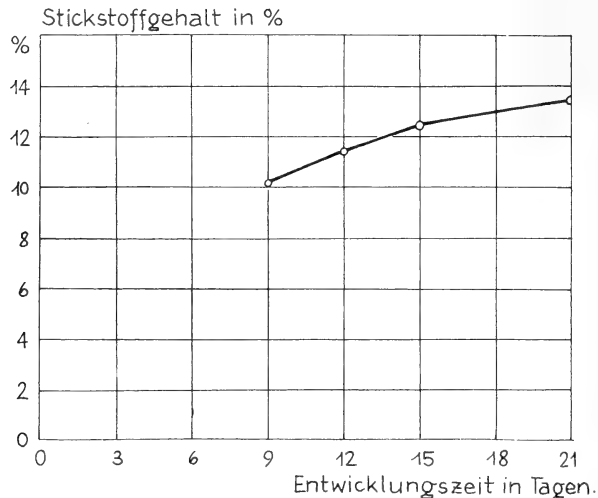


Abb. 3.

Zunahme des Gesamtstickstoffgehaltes im Verlaufe der Entwicklung.

mit Hilfe eines Nitrogen-Analyzers nach der Micro-Dumas-Methode ausgeführt. Die aus dem Thorax präparierten Muskeln werden zwei Tage lang bei 90° C im Hochvakuum getrocknet, um nachher nach genauer Einwaage im Nitrogen-Analyzer gasvolumetrisch auf den Stickstoffgehalt getestet zu werden. In Abbildung 3 sind die Mittelwerte aus je zwei Messungen angegeben. Es dürfte sehr schwierig sein, unterhalb des 9. Entwicklungstages noch genaue N-Bestimmungen durchführen zu können, da es mir fast unmöglich erscheint, die sehr kleinen und durchsichtigen Muskelfäserchen noch präparatorisch vom sehr ausgedehnten Fettkörper zu trennen. Aus diesem Grunde setzen die Messungen erst am 9. Tag ein.

Aus den gleichen Gründen beginnt auch die Bestimmung des Wassergehaltes erst mit dem 9. Entwicklungstag. Der Wassergehalt



der Muskeln von *A. pernyi* nimmt im Verlaufe der Entwicklung ab, beträgt er doch im Stadium 9 83,4%, und erreicht im imaginalen Muskel nur mehr 72%.

## 5. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die Viskositätsveränderungen des Muskelextraktes von *A. pernyi* verhalten sich auf ATP-Zusatz in gleicher Weise, wie dies NEEDHAM (1941) für Myosinlösungen und SZENT-GYÖRGYI (1942a, b, 1943) für Aktomyosinlösungen festgestellt haben. Daraus darf geschlossen werden, dass im Muskelextrakt neben anderen löslichen Proteinen (Myoglobin, Tropomyosin) auch Aktomyosin vorhanden ist, denn die Viskositätserniedrigungen auf ATP-Zusatz sind für Aktomyosin spezifisch.

Ein Vergleich der ATP-Empfindlichkeiten mit Kaninchenmuskeln (Portzehl et al. 1950) zeigt, dass ziemlich gute Übereinstimmung zwischen Säugermuskeln und Insektenmuskeln (*A. pernyi*) vorhanden ist. Dies überrascht nicht, nachdem auch das histologische Bild der Muskeln im grossen und ganzen dasselbe ist.

Es ist mir ein Bedürfnis, Frau Dr. H. PORTZEHL an dieser Stelle für ihre Anregungen und Hinweise recht herzlich zu danken. Mein Dank richtet sich auch an meinen verehrten Lehrer Prof. Dr. H. Nüesch.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG

1. Aktomyosin wird im Verlaufe der Muskelentwicklung von *Antheraea pernyi* qualitativ nachgewiesen. Das kontraktile Muskelprotein tritt erstmals am 9. Entwicklungstag in nachweisbaren Mengen auf, gleichzeitig mit dem ersten Erscheinen von Myofibrillen und kurz vor ihrer Querstreifung.
2. Der Stickstoffgehalt im Verlaufe der Muskelentwicklung wird bestimmt. Er beträgt bei Imagines 13,4%, bei Puppen am 9. Entwicklungstag 10,1% des Trockengewichtes der Muskeln.
3. Der Wassergehalt der Muskeln beträgt bei einer 9-tägigen Puppe 83,4% und fällt im Verlaufe der Entwicklung auf 72% bei der Imago ab.

## RÉSUMÉ

L'apparition de l'actomyosine au cours du développement des muscles thoraciques dans la pupa d'*Antheraea pernyi* a été étudiée qualitativement.

Cette protéine contractile est décelable au 9<sup>e</sup> jour du développement de l'adulte au moment où apparaissent les myofibrilles et avant que celles-ci soient striées. La teneur en azote qui représente 13,4% du poids sec du muscle chez l'imago n'est que 10,1% chez les pupes au 9<sup>e</sup> jour. La teneur en eau est de 83,4% chez les pupes au 9<sup>e</sup> jour, elle tombe à 72% chez l'imago.

## SUMMARY

The apparition of actinomysin during the development of the thoracic muscles in the pupa of *Antheraea pernyi* has been studied qualitatively.

This contractile protein can be found on the 9th day of imaginal development when myofibrils first appear and before the latter become striated. The proportion of nitrogen representing 13,4% of the dry muscle weight in the imago, is only 10,1% in 9 day old pupa. The amount of water is 83,4% in 9 day old pupa, and drops to 72% in the imago.

## LITERATUR

- LEUTHARDT, F., 1963. *Lehrbuch der physiologischen Chemie*. 15. Auflage, Berlin.
- NEEDHAM, D. M., NEEDHAM, J., SHEN, S. C., and LAWRENCE, A.S.C., 1941. *Myosin birefringence and Adenylphosphate*. *Nature*, 147: 766-768.
- NÜESCH, H., 1962. *Zur Entwicklung der Muskelfunktion*. *Verhandl. Naturforsch. Ges. Basel*, 73: 352-353.
- PORTZEHL, H., SCHRAMM, G., und WEBER, H. H., 1950. *Actomyosin und seine Komponenten*. *Z. Naturforsch.* 5b: 61-74.
- SZENT-GYÖRGYI, A., 1942a. *The contraction of myosin threads*. *Stud. Inst. med. Chem. Univ. Szeged*, 1: 17-26.
- 1942b. *The reversibility of the contraction of Myosin threads*. *Stud. Inst. med. Chem. Univ. Szeged*, 2: 25-26.
- 1943. *Observations on Actomyosin*. *Stud. Inst. med. Chem. Univ. Szeged*, 3: 86-92.

Nº 27. **E. Ernst**, Basel. — Bemerkungen zu den Soldaten von *Acanthotermes acanthothorax* Sjöst. (*Isoptera*). (Mit 4 Textabbildungen).

Schweizerisches Tropeninstitut Basel.

Die pilzzüchtende Termitenart *Acanthotermes acanthothorax* (*Termitidae: Macrotermitinae*), welche in den tropischen Regenwaldgebieten von West- und Zentralafrika in unterirdischen Nestkomplexen (GRASSÉ und NOIROT 1951) lebt, weist einen komplizierten Polymorphismus auf (NOIROT 1955). Neben zwei Arbeiterformen werden verschiedene Soldatenformen erwähnt. So beschreibt SJÖSTEDT (1900, 1926) fünf Soldaten, nämlich einen grossen ( $S^{1A}$ ) und einen kleinen ( $S^{2B}$ ) als Hauptformen, sowie drei weitere, von denen er einen ( $S^{2A}$ ) als Zwischenform zu den kleinen Soldaten, die beiden anderen ( $S^{1B}$  und  $S^{1C}$ ) zu den grossen Soldaten stellt. EMERSON (1928) anerkennt nur die zwei Hauptformen von SJÖSTEDT; er stellt im Kopf des  $S^{1C}$  eine parasitierende Larve fest und nimmt dasselbe auch für den  $S^{1B}$  an, obwohl er hier keine Larve sehen konnte. GRASSÉ fand an der Elfenbeinküste drei Soldaten, die den Formen  $S^{1A}$ ,  $S^{2A}$  und  $S^{2B}$  von SJÖSTEDT entsprechen. NOIROT (1955) bestätigte diese Auffassung durch den Nachweis der drei entsprechenden Vorsoldaten-Stadien; in Fig. 76 zeigt er einen Soldaten mit einer Larve im Kopf, von dem er glaubt, er stimme mit dem  $S^{1C}$  von SJÖSTEDT überein.

Das während eines Aufenthaltes an der Elfenbeinküste 1962<sup>1</sup> von uns gesammelte *Acanthotermes*-Material ergab die von GRASSÉ (1937) erwähnten drei Soldatentypen; in zwei Proben fanden sich einige kleinere Soldaten, die durch ihre abweichende Kopfform auffielen (vergl. Abb. 1: B und C). Im Herbst 1963 wurde aus dem Kongo (IRSAC-Station Irangi, Prov. Kivu)<sup>2</sup> weiteres Material von *Acanthotermes* eingebracht, das ebenfalls neben den drei

<sup>1</sup> Durchgeführt mit Hilfe des Schweizerischen Nationalfonds.

<sup>2</sup> Herrn Prof. Dr. R. Geigy danke ich für die Ermöglichung dieser Reise durch das Schweizerische Tropeninstitut, Herrn Dr. U. Rahm und seiner Frau für ihre Gastfreundschaft.

Soldatentypen eine kleine Anzahl von abnormalen Soldaten in drei Grössen enthielt (Abb. 1: A-C).

Die kleineren der abnormalen Soldaten (Abb. 1: C) haben einen rundlichen Kopf, der am Hinterrand wenig abgeplattet ist; die relativ langen und feinen Mandibeln gleichen jenen des normalen

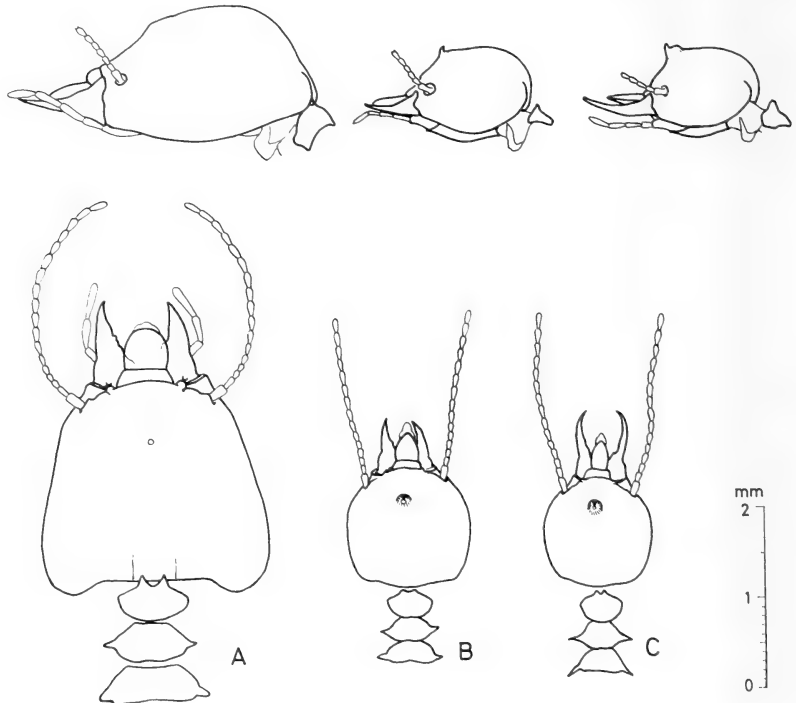


ABB. 1.

Köpfe abnormaler Soldaten von *Acanthotermes* aus dem Kongo

kleinen Soldaten; die Antennen bestehen aus 15 Gliedern; die Fontanellöffnung ist erhoben und vorn mit einem aufrechtstehenden Dorn versehen; Kopflänge mit Mandibeln 1.8—2.0 mm, Kopfbreite 1.05—1.20 mm. Abgesehen von dem etwas kürzeren Kopf stimmen diese Soldaten mit dem von NOIROT (1955) abgebildeten parasitierten Soldaten überein, entsprechen aber wegen der Mandibel-form nicht dem S<sup>1C</sup> von SJÖSTEDT.

Die mittleren abnormalen Soldaten (Abb. 1: B) haben ebenfalls einen blasenförmigen Kopf, der hinten deutlich abgeplattet ist; die

Kopfkapsel selbst ist etwas grösser als bei der Form C; die Mandibeln sind kürzer und weisen eine schwache Bezahnung auf; Kopflänge mit Mandibeln 1.8—2.0 mm, Kopfbreite 1.3—1.55 mm; die Antennen haben ebenfalls 15 Glieder; die Fontanellöffnung ist wenig erhoben und besitzt vorn einen Dorn. Diese Form entspricht ungefähr dem Soldaten S<sup>1C</sup> von SJÖSTEDT.

Die grösseren abnormalen Soldaten (Abb. 1: A) haben einen dreieckig erscheinenden Kopf, dessen Hinterecken jedoch nicht immer ausgezogen sind; die kurzen Mandibeln sind wenig chitiniert und schwach bezahnt; die Antennen bestehen aus 17 (—18) Gliedern; die Fontanellöffnung ist nicht erhoben und besitzt keinen Dorn; Kopflänge mit Mandibeln 2.90—3.15 mm, Kopfbreite 2.50—2.60 mm. Diese Soldaten sind viel kürzer als die von SJÖSTEDT beschriebenen S<sup>1B</sup>, deren Kopfseiten zudem deutlich abgerundet sind.

Da EMERSON (1928) und NOIROT (1955) in den Köpfen der aberranten Soldatenformen Larven erwähnten, untersuchten wir auch unsere Soldaten in dieser Hinsicht. Die Kopfkapseln waren aber zu wenig durchsichtig, um darin von aussen eine Larve erkennen zu können. Die histologische Aufarbeitung des nur in 75% Alkohol fixierten Materials ergab zwar keine sehr guten Schnitte, brachte jedoch den eindeutigen Nachweis, dass alle abnormalen Soldaten im Kopf eine Larve enthalten (Abb. 2—4). Die drei schon von GRASSÉ gefundenen Soldatentypen wiesen niemals solche Larven auf. Daraus geht hervor, dass in den Kolonien von *Acanthotermes* drei normale Soldatenformen vorkommen, während die durch ihren blasenförmig aufgetriebenen Kopf gekennzeichneten Zwischenformen von parasitisch lebenden Larven verursacht sind.

Über solche von Fliegenlarven parasitierte Termitensoldaten berichtete erstmals KEMNER (1925), der nachweisen konnte, dass die von HOLMGREN (1912) beschriebene Gattung *Gnathotermes* auf myiagenen Soldaten fusste, die in Wirklichkeit aberrante Soldaten von *Macrotermes malaccensis* waren. SILVESTRI (1926) fand parasitierte Soldaten bei *Macrotermes gilvus* von den Philippinen. Schliesslich beobachtete KALSHOVEN (SCHMITZ und KALSHOVEN 1938) an parasitierten *Macrotermes gilvus*-Soldaten in Java, dass das dritte Larvenstadium zur Verpuppung ins Abdomen wandert, was zum Tod der Soldaten führt, und es gelang ihm, daraus

adulte Phoriden-Imagines zu züchten. NOIROT (1953) fand an der Elfenbeinküste Fliegenlarven auch in Arbeitern von *Noditermes curvatus*.

Die Bestimmung der Larven in den vorliegenden abnormalen Soldaten von *A. acanthothorax* ist nicht möglich, sie zeigen jedoch viel Ähnlichkeit mit den bisher aus Termitensoldaten beschriebenen Fliegenlarven, sodass wir annehmen können, es handle sich hier ebenfalls um die Larven einer Dipterenart.

Die 2—3.5 mm langen Larven liegen U-förmig gekrümmt so im Kopf der Termitensoldaten, dass sich die beiden Enden beinahe berühren und manchmal nach vorn (Abb. 2), manchmal nach hinten (Abb. 4) gerichtet sind. Vor allem bei den kleineren Soldaten füllen die Larven fast die gesamte Kopfkapsel aus. Das Oberschlundganglion der Soldaten ist meist deformiert (Abb. 4) und beiseite geschoben. Auch die Stirndrüse ist nach oben zusammengepresst (Abb. 3). Die sonst mächtige Kopfmuskulatur fehlt bei den myiagenen Soldaten gänzlich oder ist auf einige wenige Fasern reduziert. Dagegen sind der Oesophagus und das Unterschlundganglion unverändert (Abb. 3).

Die äusseren morphologischen Veränderungen betreffen hauptsächlich die Kopfregion, während Thorax und Abdomen ziemlich unverändert erscheinen. Da die parasitierenden Larven bei den adulten Soldaten kaum derartige Umbildungen der Kopfform und der Mandibeln verursachen können, ist es sehr wahrscheinlich, dass die Larven bereits das Vorsoldaten-Stadium befallen und beeinflusst haben. Zwar könnten die auftretenden Missbildungen durch eine Störung der hormonalen Verhältnisse hervorgerufen worden sein, doch neigen wir eher zur Ansicht, dass der wachsende Parasit einen gewissen Druck (besonders bei den kleineren Soldaten) ausübt und auf diese Weise die Kopfkapsel während der Häutung deformiert. Das Fehlen der Kopfmuskulatur setzt die Mandibeln ausser Funktion und verhindert möglicherweise ihre normale Ausbildung, jedenfalls scheinen die Mandibeln der myiagenen Soldaten während der Entwicklung gehemmt und auf einem jugendlichen Stadium stehen geblieben zu sein.

Vergleichen wir die Ausbildung und Grösse der Thorakalschilder und vor allem der drei Beinpaare, welche bei den parasitierten Soldaten ziemlich unverändert sind, mit jenen der normalen Soldaten, so stellen wir fest, dass die beiden kleineren myiagenen



ABB. 2

Frontalschnitt durch den Kopf  
eines parasitierten Soldaten von  
*Acanthotermes* (Form C)



ABB. 4

Frontalschnitt durch den Kopf  
eines parasitierten Soldaten von  
*Acanthotermes* (Form B)



ABB. 3

Querschnitt durch den Kopf eines parasitierten Soldaten von *Acanthotermes*  
(Form C)

Formen B und C mit dem kleinen Soldaten weitgehend übereinstimmen. Die Antennen setzen sich bei allen aus 15 Gliedern zusammen. Wir können daraus schliessen, dass die Formen B und C parasitierte kleine Soldaten sind. Die Unterschiede zwischen den

Formen B und C rühren vielleicht daher, dass die Form C erst im späten Vorsoldatenstadium befallen wurde, als die Mandibeln bereits gebildet waren; der im Zeitpunkt der Häutung noch kleinere Parasit würde die Kopfkapsel auch weniger deformieren.

Der grössere parasitierte Soldat (Abb. 1: A) ist schwieriger abzuleiten. Sowohl der grosse als auch der mittlere normale Soldat haben 17 Antennenglieder. Doch sind die Beinlänge (Tibia) und die Thorakalschilder jenen des grossen Soldaten mehr ähnlich. Da zudem diese Körperteile durch die Parasitierung eher reduziert werden, dürfte die Form A einen parasitierten grossen Soldaten von *Acanthotermes* darstellen.

Das Verhalten der parasitierten Soldaten war im grossen und ganzen normal. Sie bewegten sich wie die anderen Soldaten zwischen den Arbeitern, von denen sie auch gefüttert wurden. Ihre Funktionen bei der Verteidigung der Kolonie gegenüber eindringenden Ameisen konnten sie jedoch wegen des Fehlens der Mandibelmuskulatur nicht ausüben.

#### ZUSAMMENFASSUNG

An der Elfenbeinküste und im Ostkongo gesammeltes Material von *Acanthotermes acanthothorax* Sjöst. ergab, dass diese pilzzüchtende Termitenart normalerweise drei Soldatenformen besitzt. Es wurden noch drei weitere Formen gefunden, die sich durch einen blasenförmig aufgetriebenen Kopf und teilweise durch unvollständig entwickelte Mandibeln auszeichnen. Histologisch konnte gezeigt werden, dass diese abnormalen Soldaten im Kopf von einer Dipterenlarve parasitiert sind (myiagene Soldaten).

#### SUMMARY

In the Ivory Coast and in the Eastern Congo collected material of *Acanthotermes acanthothorax* Sjöst. revealed, that this fungus growing termite has normally three forms of soldiers. Three other forms of soldiers have now been found. Their head is enlarged, and some of them have uncompletely developed mandibles. Histologically it could be proved that the heads of these abnormal soldiers are parasitized by a Dipterous larva (myiagene soldiers).



## RÉSUMÉ

Les colonies du termite *Acanthotermes acanthothorax* Sjöst. trouvées en Côte-d'Ivoire et au Congo oriental possèdent normalement trois formes de soldats. Nous avons observé trois autres formes: leur tête est agrandie et quelques-uns ont des mandibules peu développées. L'histologie a démontré que ces soldats anormaux sont parasités par une larve de Diptère logée dans la tête (soldats myiagènes).

## LITERATUR

- EMERSON, A. E., 1928. *Termites of the Belgian Congo and the Cameroon*. Bull. Amer. Mus. Nat. Hist. 57: 401-574.
- GRASSÉ, P. P., 1937. *Recherches sur la systématique et la biologie des Termites de l'Afrique occidentale française*. Ann. Soc. Ent. France 106: 1-100.
- et NOIROT, Ch., 1951. *Nouvelles recherches sur la biologie de divers Termites champignonnistes (Macrotermitinae)*. Ann. Sci. Nat. Zool. 11<sup>e</sup> sér., 13: 291-342.
- HOLMGREN, N., 1912. *Termitenstudien. 3. Teil*. K. Svenska Vet. Akad. Handl. 48: N° 4: 1-166.
- KEMNER, N. A., 1925. *Larva termitovorax, eine merkwürdige parasitische Fliegenlarve, die im Kopf von Termitensoldaten lebt, und durch Verunstaltung desselben Veranlassung zur Aufstellung eines besonderen Termitengenus mit zwei Arten gegeben hat*. Ark. Zool. 17 A: N° 29: 1-15.
- 1925. *Weitere Beobachtungen über das Genus Gnathotermes Holmgr., das sich als auf parasitierte Termes-Individuen begründet erwiesen hat*. Ent. Tidskr. 46: 157-163.
- NOIROT, Ch., 1953. *Un effet paradoxal du parasitisme chez les Termites*. Bull. Union Int. Ins. Soc. 1: 11-20.
- 1955. *Recherches sur le polymorphisme des Termites supérieurs (Termitidae)*. Ann. Sci. Nat. Zool. 11<sup>e</sup> sér., 17: 399-595.
- SCHMITZ, H., und KALSHOVEN, L. G. E., 1938. *Misotermes exenterans n.g. n. sp., eine parasitische Fliege aus der Familie der Phoridae, welche die Entstehung myiagener Soldaten bei Macrotermes gilvus Hag. in Java verursacht*. Treubia 16: 369-397.
- SILVESTRI, F., 1926. *Descrizione di particolari individui (myiagenii) di Macrotermes gilvus Hag. parassitizzati da larva di Dittero*. Boll. Lab. Zool. Portici 19: 3-18.

- SJÖSTEDT, Y., 1900. *Monographie der Termiten Afrikas*. K. Svenska Vet. Akad. Handl. 34: N° 4: 1-234.  
— 1926. *Revision der Termiten Afrikas*. 3. *Monographie*. K. Svenska Vet. Akad. Handl. 3. ser., 3: N° 1: 1-419.
- 

N° 28. **E. Hadorn und A. Garcia-Bellido**, Zürich. —  
Zur Proliferation von *Drosophila*-Zellkulturen im  
Adultmilieu.<sup>1</sup> (Mit 3 Textabbildungen und einer Tabelle.)

Zoologisch-vergl. anatomisches Institut der Universität Zürich.

Werden Fragmente larvaler Imaginalscheiben unter Umgehung der Metamorphose in das Abdomen adulter Fliegen implantiert, so vermehren sich die Zellen dieser Primordien. Teilstücke solcher Kulturen konnten so bis zum Abschluss dieser Arbeit nun während 17 Monaten *in vivo* kultiviert werden. Dabei wurden die Zellverbände 44 mal je in neue Wirte transferiert. Während dieser Zeit blieb der larvale undifferenzierte Zustand dauernd erhalten (HADORN 1964). Meist belassen wir die Implantate während 2 Wochen in der gleichen Wirtsfliege. Wahrscheinlich lassen sich einzelne Stammlinien unbeschränkt weiterzüchten. Von solchen Linien werden regelmässig einzelne Teilstücke abgezweigt und in Larven des 3. Stadiums rücktransplantiert. Mit diesen Wirten schicken wir die larval gebliebenen Zellen durch die Metamorphose. Dabei hat sich gezeigt, dass die lang andauernde Kultur *in vivo* die ursprüngliche imaginale Differenzierungsfähigkeit keineswegs beeinträchtigt. In der Regel vollenden die Implantate vielmehr die Histogenese, wobei adulte Körper- und Organteile ausgebildet werden. Wie an anderer Stelle (HADORN 1963, 1964) bereits mitgeteilt wurde, stellte sich dabei ein überraschender Befund ein: Proliferierende Zellverbände, die aus mosaikartig determinierten Arealen der männlichen Genitalscheibe hervorgehen, differenzieren

---

<sup>1</sup> Ausgeführt und herausgegeben mit Unterstützung der Georges und Antoine Claraz-Schenkung.

Für die Mithilfe bei diesen Experimenten danken wir Frl. M. Eich und Herrn W. Gehring herzlich.

sich teils erwartungsgemäss zu „bedeutungseigenen“ Strukturen, wie Analplatten, Enddarm, Claspers, Penisapparat, Ductus ejaculatorius und Paragonien. In anderen Zellgruppen entstehen „bedeutungsfremde“ Bildungen, namentlich Kopfteile, Beinpartien und Flügelareale.

In der vorliegenden Arbeit soll uns lediglich das Ausmass der Proliferation unserer Kulturen im Adultmilieu interessieren. Doch haben wir für diese Untersuchung auch die stammesspezifischen Eigenschaften der einzelnen Linien, so wie sie sich in der metamorphotischen Differenzierung nach der Rücktransplantation äussern, zu berücksichtigen. Alle Versuche wurden bei 25° C durchgeführt. Die geprüften Kulturen stammen aus den 32.—37. „Transfergenerationen.“ Es handelt sich somit um Zellen, die mehr als ein Jahr in vivo leben und sich dort vermehren konnten.

#### 1. UNTERSCHIEDLICHE CHARAKTERISTIK DER EINZELNEN STÄMME

Für die Untersuchung der Vermehrungsleistung haben wir aus der grossen Zahl der verschiedenen Linien drei Typen herausgegriffen.

a) *Typus A*: Kulturen, in denen sich aus dem ursprünglichen bedeutungseigenen genitalen Differenzierungsinventar die Bildung von Analplatten und von Enddarmstücken erhalten hat. Gleichzeitig entstehen bei diesem Typus mit Regelmässigkeit auch bedeutungsfremde Bildungen, so vor allem Kopfteile (Stirn, Antennen, Palpus), aber auch Beinareale und Flügelpartien.

b) *Typus B*: An bedeutungseigenen Leistungen erscheinen neben den Weichteilen des inneren Geschlechtsapparates (pulsierender Ductus ejaculatorius und Paragonien) auch die Hartgebilde des Penisapparates und der Claspers. Es besteht bei diesem Typus auch eine Differenzierungstendenz in Richtung stark proliferierender epithelartiger Weichteile, deren Zuordnung zu Normalstrukturen des Fliegenkörpers schwierig ist. Völlig verloren ist hier, im Gegensatz zum Typus A, die Fähigkeit zur Gestaltung von Analplatten. Bedeutungsfremde Leistungen, wie Kopf, Bein und Flügel sind beim Typus B selten.

c) *Typus C*: Hier handelt es sich um Subkulturen, die bis zur 31. Transfergeneration weitgehend ähnliche Leistungen wie im Typus B

zeigten. Von diesem Zeitpunkt an, d.h. nach rund einjähriger Kulturdauer, änderte sich die Charakteristik grundlegend. Erhalten geblieben ist lediglich eine ausserordentlich intensive Proliferationsfähigkeit (Abb. 1). Als Rücktransplantat hemmen die sich im Larvenmilieu auch weiter vermehrenden Zellen entweder die Metamorphose des Wirtes völlig, oder falls es dem Wirt gelingt, sich trotz des Implantats zu verpuppen und zu metamorphosieren, so finden wir die Zellen des Typus C im Fliegenabdomen als undifferenzierte homogene Verbände, die keine Anzeichen einer imaginalen Differenzierung aufweisen. Auf die Natur dieses „C-Phänomens“ wollen wir in dieser Arbeit nicht eintreten. Jedenfalls scheint der Verlust der Differenzierungsfähigkeit nicht auf grösseren chromosomalen Aberrationen zu beruhen. In den zahlreichen Mitosen finden wir den normalen männlichen Chromosomensatz.

## 2. ZUR TECHNIK

Das Ausmass der Zellvermehrung wird wie folgt untersucht: Eine Kultur wird aus dem Abdomen des Wirtes herauspräpariert und je nach Grösse in 20–50 Teilstücke zerlegt. Die Grösse der Fragmente messen wir mit Hilfe eines Netzkulars. Dabei wird der Zellverband für alle Bestimmungen zwischen Objektträger und Deckglas je auf gleiche Schichtdicke ausgepresst. Die Fläche dieses „Kuchens“ wird so proportional zum Volumen des Verbandes. Die Ausgangsgrösse, die meist 400–800  $\mu^2$  belegt, wird für die zu vergleichenden Wachstumsleistungen einer Versuchsserie möglichst konstant gehalten. Stücke von solcher Initialgrösse werden nun je einzeln in die Abdomina von 4 Tage alten Imagines übertragen. Nach 4, 8, 16 oder 24 Tagen Kulturdauer präparieren wir die Implantate wieder frei und bestimmen ihre Grösse. Als Wirte verwendeten wir entweder befruchtete Weibchen, virginelle Weibchen oder Männchen.

## 3. DIE PROLIFERATIONSLEISTUNGEN IM ADULTMILIEU

Eine erste Gruppe von Befunden ist in der Abb. 1 dargestellt. Die Grösse des hier verwendeten Versuchsmaterials ist in der Tabelle 1 angegeben. Zusammenfassend ergeben sich wesentliche Unterschiede, einerseits je nach der Charakteristik der Kultur und

andererseits je für die verschiedenen Umweltbedingungen im Wirtsorganismus.

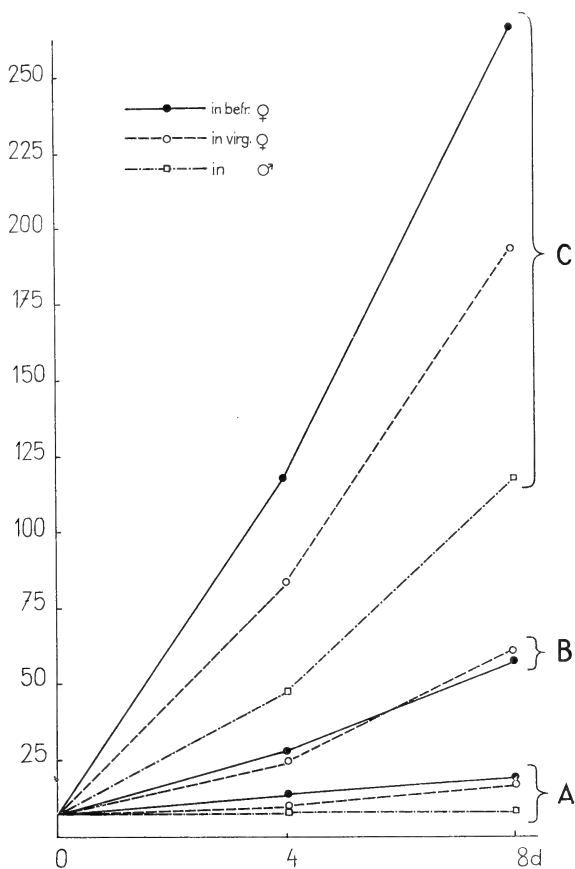


ABB. 1.

Wachstumsleistung für die Zelltypen A, B, C in 4 und 8 Tagen (Abszisse: d), angegeben in Netzkulareinheiten von  $100 \mu^2$  (Ordinate). Die Kurven geben die Mittelwerte an für das in Tab. 1 aufgeführte Versuchsmaterial. Gleiche Ausgangsgröße zur Zeit 0 für alle Versuche.

a) Im befruchteten Weibchen wachsen die Kulturen mindestens in der Initialphase bis zum 4. Tage stärker als in virginellen Weibchen. Dies steht in Übereinstimmung mit einer Erfahrung von GARCIA-BELLIDO (1964), der zeigen konnte, dass das Vermehrungswachstum der Spermatogonien in transplantierten Hoden im befruchteten Weibchen ebenfalls

bedeutend ausgiebiger ist als im virginellen Wirt. Relativ gering ist die Proliferation unserer Kulturen im männlichen Adultwirt.

TABELLE 1.

Das Versuchsmaterial der drei Typen A, B, C.  
Zahl der Spenderkulturen (n Sp). Gemessene Stücke zur Zeit der Implantation (n o). Zahl der gemessenen Implantate nach 4 und 8 Tagen (4 d, 8 d) in befruchteten Weibchen (betr. W), virginellen Weibchen (virg. W) und männlichen Wirten (M).

Typ	n Sp	n o	betr. W		virg. W		M	
			4 d	8 d	4 d	8 d	4 d	8 d
A	6	20	29	20	27	18	14	15
B	4	13	22	15	26	13	12	8
C	7	18	28	16	29	17	11	5

b) Die Vermehrung der Zellen ist stammesspezifisch ausserordentlich verschieden. Beim Typus A wird im befruchteten weiblichen Wirt im Verlaufe von 8 Tagen die Ausgangsgrösse etwa vervierfacht. Der stärker proliferierende Typus B vermehrt in derselben Zeit das Volumen rund zehnmal. Für den Typus C stellen wir eine mittlere Grössenzunahme fest, die zu einem fünfzigfach vermehrten Volumen führt. Solche Riesenimplantate blähen dann das Abdomen der Wirte sehr stark auf und führen regelmässig in der zweiten Kulturwoche zum Tode ihrer Träger.

c) Zellverbände der Typen A und B lassen sich dagegen während 3—4 Wochen im gleichen Adultwirt kultivieren. Mit diesem Material kann daher der weitere Wachstumsverlauf geprüft werden. In der Abb. 2a ist für zwei Spender, für die eine Proliferationsaktivität vom Typus B charakteristisch ist, gezeigt, dass sich die Grösse des Implantats mit verlängerter Kulturdauer nicht beliebig steigern lässt. Von der zweiten Woche an scheint sich das Implantat einer Endgrösse asymptotisch zu nähern.

d) Unter unserem Material gibt es auch Kulturen, die in bezug auf Proliferationsleistungen nicht homogen sind. Neben Zellgruppen, die zu starker Vermehrung neigen, enthalten diese Stämme

auch Areale, für die eine nur geringe mitotische Aktivität charakteristisch ist. Ein solcher Fall wird mit der Abb. 2b belegt. Hier konnte eine Kultur in 29 Fragmente zerlegt werden. Wir sehen, dass viele Implantate selbst nach 24 Tagen nur wenig gewachsen sind, während andere Zellproben aus demselben Spender sich recht

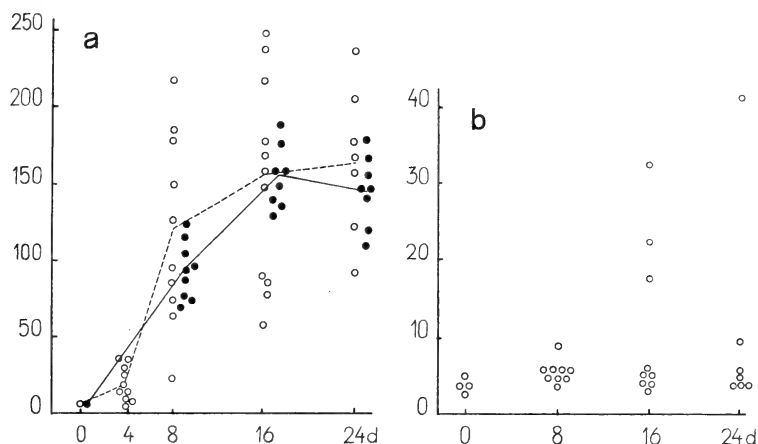


ABB. 2a

Wachstum bei verlängerter Kulturdauer (Abszisse in Tagen d) angegeben für Implantat von zwei verschiedenen Spendern (offene und ausgefüllte Kreise). Ordinate: Flächengröße in Netzkulareinheiten von je  $100 \mu^2$ . Ausgangsgröße zur Zeit 0 als Mittelwert angegeben. Jeder Kreis bezeichnet ein Implantat.

ABB. 2b

Beispiel für eine inhomogene Kultur, die in 29 Fragmente zerlegt wurde. Bezeichnung wie in Abb. 2a.

stark vergrößern konnten. Aus einer derartigen Kultur, die zum A-Typ gehört, konnten wir durch wiederholtes Aufteilen in sehr kleine Fragmente (Fläche:  $50-100 \mu^2$ ), im Verlaufe von vier Transfergenerationen verschiedene Subkulturen mit unterschiedlicher Wachstumscharakteristik segregieren.

# SUMMARY

Larval cells of male genital imaginal discs have been cultivated during more than one year in the abdomens of adult flies. Thereby series of cell lines could be separated, which differ specifically in

their proliferating activity. These differences are correlated with the organspecific quality of those adult structures which the cells of different lines can form when they undergo metamorphosis.

The proliferation in an adult host is greatest in fertilized females, less so in virgin females and still less in males.

### RÉSUMÉ

Des cellules larvaires de disques imaginaux génitaux mâles ont été cultivées pendant plus d'une année dans les abdomens de mouches adultes. On a ainsi obtenu des séries de lignées cellulaires qu'on a pu séparer et qui diffèrent dans les modalités de leur prolifération. Ces différences sont étroitement liées aux potentiels spécifiques de différenciation des blastèmes, potentiels qui se manifestent lorsque les cultures de cellules subissent la métamorphose. La prolifération de ces cultures *in vivo* est surtout abondante chez les femelles fécondées, moindre chez les femelles vierges et encore plus réduite chez les mâles.

### LITERATURVERZEICHNIS

- GARCIA-BELLIDO, A., 1964. *Analyse der physiologischen Bedingungen des Vermehrungswachstums männlicher Keimzellen von Drosophila melanogaster* (im Druck).
- HADORN, E., 1963. *Differenzierungsleistungen wiederholt fragmentierter Teilstücke männlicher Genitalscheiben von Drosophila melanogaster nach Kultur in vivo*. *Developmental Biology* 7: 617-629.
- HADORN, E., 1964. *Bedeutungseigene und bedeutungsfremde Entwicklungsleistungen proliferierender Primordien von Drosophila nach Dauerkultur in vivo*. *Rev. Suisse de Zool.* 71: 99-115.



N<sup>o</sup> 29. **E. Hadorn, P. Remensberger und H. Tobler,**  
Zürich. — Autonomie in der Hodenentwicklung und  
Dissoziation von Chemogenese und Histogenese bei  
*Drosophila melanogaster*.<sup>1</sup> (Mit 3 Textabbildungen.)

Zoologisch-vergl. anatomisches Institut der Universität Zürich.

# 1. DIE AUTONOMIE DER SPERMATOGENESE

a) *Zum Spermatogeneseverlauf in situ.* Die Keimzellen erreichen bei dem von uns verwendeten Sevelen-Wildstamm in annähernd verpuppungsreifen Larven mit 96 h nach Eiablage (bei 25° C und unter reichlichem Nahrungsangebot) das prämeiotische Stadium mit voll ausgewachsenen Spermatocyten 1. Ordnung. Diese Auxocyten liegen in Gruppen von je sechzehn Zellen vereinigt innerhalb von Cysten (Abb. 1a). Die ersten Meiosestadien (Abb. 1b) treten 18—20 h nach der Pupariumbildung auf. Wenige Stunden später finden wir in zahlreichen Cysten sich differenzierende Spermatiden. Die ersten reifen Spermien werden in einzelnen Individuen schon 24 h nach der Pupariumbildung festgestellt. Mit 30 h ist ein solches Endstadium in allen Hoden erreicht.

b) *Das Problem.* Die nachfolgenden Versuchsanordnungen sollen zunächst zeigen, ob und in welchem Ausmasse der Vorgang der Spermatogenese vom humoralen und nutritiven Milieu des Vorpuppen- und Puppenstadiums abhängig ist.

c) *Entwicklung in abgeschnürten larvalen Hinterhälften.* Mit einem feinen Kinderhaar wird in Larven des 3. Stadiums ( $90 \pm 2$  h nach Eiablage) die Hinterhälfte vom Vorderteil „abgetrennt“. Verwendet werden nur solche Fälle, in denen im Vorderteil die Pupariumbildung gelingt und wo gleichzeitig das Hinterende am Leben geblieben ist, was u.a. aus der persistierenden Herzkontraktion ersichtlich ist. Als Kontrollen dienen 90 h alte Larven des gleichen Geleges, die wie die geschnürten Experimentaltiere ohne Futter auf feuchtem Filtrierpapier gehalten werden und sich unter

---

<sup>1</sup> Ausgeführt mit Unterstützung der Karl Hescheler-Stiftung.

diesen Bedingungen auch normal verpuppen. An 45 überlebenden Hinterenden wurde festgestellt, dass die einzelnen Spermatogenesestadien in larval bleibenden Hinterhälften nahezu gleichzeitig mit den entsprechenden Phasen

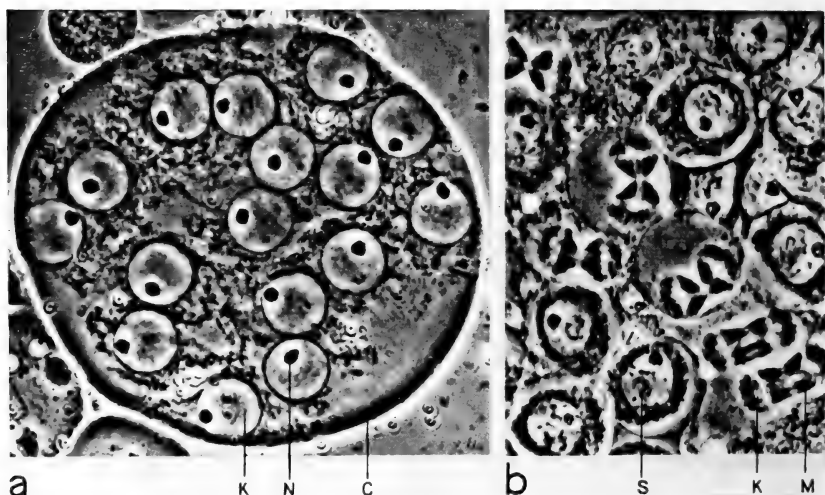


ABB. 1a.

Lebendaufnahme (Phasenkontrast) einer flach gequetschten Cyste. Die Kerne (K) der 16 Auxocyten mit kompaktem Nukleolus (N) treten scharf hervor, während die Zellgrenzen nicht erhalten sind. C = „Cystenmembran“. Vergr. 1500 $\times$ .

ABB. 1b.

Lebendaufnahme (wie Abb. 1a). Meiosestadien mit Kern (K) und Mitochondrien (M), daneben noch Spermatocyten (S) in der Prophase der RT I. Vergr. 1500 $\times$ .

in Normalkontrollen erreicht werden. Diese Aussage stützt sich auf den Zustand von Hoden, die 12, 18, 24, 27, 30 und 36 h nach der Puparisierung der Kontrollen untersucht und mit diesen verglichen wurden. Somit verläuft die Spermatogenese im larvalen Hoden unabhängig vom Metamorphosevorgang und nach einem völlig autonomen und normalen Zeitplan. Eine hormonale Förderung der Spermiogenese durch das Ringdrüsensystem, wie sie M. Vogt (1943) postuliert, ist somit nach unseren Befunden nicht notwendig.

Andererseits erscheint in abgeschnürten Hinterenden die Vermehrung der Spermatogonien eingestellt, und ebenso unterbleibt die Ausfärbung der Hodenhülle. Über die Pterinbildung wird auf S. 586 f. berichtet.

d) *Entwicklung in überlebenden Hungerlarven.* In extrem über-völkerten Kulturen unterbleibt die Pupariumbildung. In 20 Larven, die am 7. Zuchttag (d.h. 3 Tage nachdem die Kontrollen sich verpuppt hatten) untersucht wurden, fanden sich in den Hoden von 18 Individuen einzelne Cysten mit Meiose- und Spermiogenesestadien. In einigen Fällen wurden auch reife Spermien festgestellt.

e) *Spermatogenese in vitro.* In einem Medium, das unser Gast Dr. Robert DEHAAN<sup>1</sup> entwickelt hat (unveröffentlicht), wurden  $90 \pm 2$  h alte Larvalhoden kultiviert. Nach 30 h wurden in einigen Fällen Meiose- und Spermiogenesestadien beobachtet.

f) *Autonomie der Spermatogenese im Adultmilieu.* Nach den Befunden von HADORN (1964) verharren die larvalen Primordien der Imaginalscheiben während Monaten und Jahren dauernd im undifferenzierten Zustand, wenn sie unter Umgehung der Metamorphose im Abdomen adulter Fliegen kultiviert wurden. Dagegen konnte bereits BODENSTEIN (1947) für *Drosophila virilis* zeigen, dass in Larvalhoden, die in Adultwirte versetzt wurden, die Spermatogenese vollendet wird. Wir untersuchten nun an einem grossen Material den genauen Zeitplan dieser autonom ablaufenden Vorgänge. Der Befund ist eindeutig: In Hoden, die aus einer 96 h alten Larve stammen, und die in das Abdomen frisch geschlüpfter Imagines implantiert wurden, setzt die Meiose und die Spermiogenese zum gleichen Zeitpunkt ein wie in situ, d.h. wie in metamorphosierenden Kontrollen. Ein Endstadium dieser Leistung ist in Abb. 2 dargestellt. Wie erwartet, verändert sich allerdings die Form des frei in der Haemolymphe flottierenden Implantatshodens nicht; er bleibt ovoid, während ein Kontrollhoden, der sich an das Vas efferens heftet, die adulte Spiralforn erreicht (vergl. STERN u. HADORN 1938).

---

<sup>1</sup> Wir danken Herrn Dr. DeHaan (Carnegie Institution of Washington, Department of Embryology) für seine Mithilfe und für die Erlaubnis zur Mitteilung des unveröffentlichten Befundes.

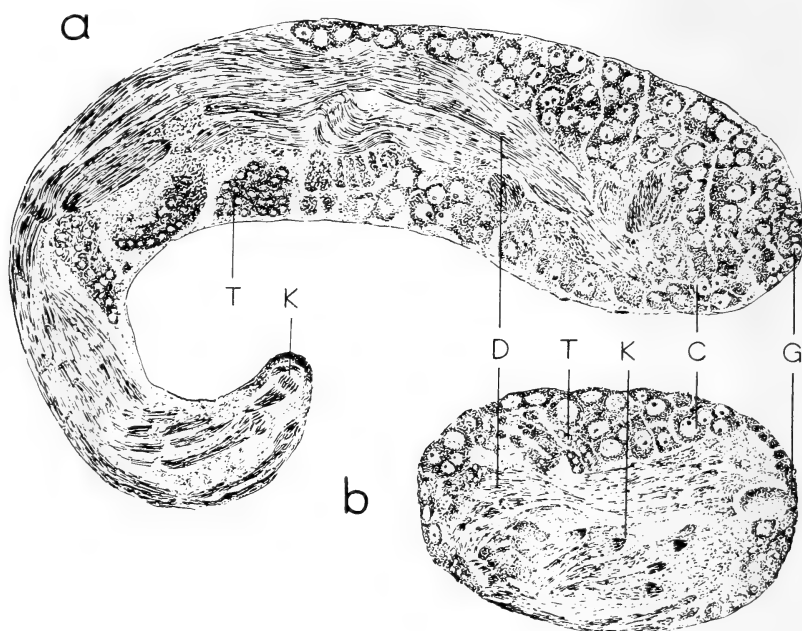


ABB. 2.

Vergleich eines Kontrollhodens (a) aus einer 96 h Puppe mit einem Larvalhoden (b), nach 96 h Kultur in einem Abdomen eines Adultweibchens. G = Spermatogonien, C = Spermatocyten, T = Spermatiden, D = Spermiodesmen (Schwänze), K = Spermaköpfe.  
Vergr. 210  $\times$ .

Wie in abgeschnürten Larvalhälften unterbleibt auch im Adultmilieu die Pigmentierung der Hodenhülle. Dieser Vorgang ist daher im Gegensatz zur Spermatogenese an die Metamorphose des umgebenden Humoralmilieus gebunden (S. 585).

## 2. DIE PTERINBILDUNG

a) *Das Problem.* Nach HADORN und MITCHELL (1951) treten bei *Drosophila* verschiedene fluoreszierende Pterine erst im Verlaufe der Metamorphose in grösseren Mengen auf. Wir berücksichtigen im folgenden lediglich das Isoxanthopterin. Diese Verbindung kommt in der Larve nur in geringen Quantitäten vor; sie erreicht eine hohe Konzentration erst in der zweiten Hälfte der Pupalzeit

(vergl. auch HANDSCHIN 1961). Dabei akkumulieren die Männchen rund fünfmal mehr Isoxanthopterin als die Weibchen. Dieser Geschlechtsunterschied beruht vor allem auf einem sehr hohen Gehalt, der sich in den reifenden Hoden einstellt. Da im vorausgehenden Teil dieser Mitteilung gezeigt wurde, dass die Keimzellreifung und Differenzierung im Hoden autonom abläuft, interessiert uns nun die Frage, ob eine entsprechende Unabhängigkeit auch für das Isoxanthopterin des Hodens nachzuweisen ist. Wir berichten nachfolgend sowohl über die Verhältnisse in abgeschnürten Larvalhälften wie über Befunde an Hoden, die sich ohne „Metamorphose-Erlebnis“ im Adultabdomen weiblicher oder männlicher Wirte differenzieren.

b) *Isoxanthopterinbildung in abgeschnürten Larvalhälften.* Wiederum werden Larven des 3. Stadiums, diesmal im Alter von 96 h geschnürt. Je in Abständen von 10 oder 14 Stunden werden sowohl die überlebenden und äusserlich larval bleibenden Hinterhälften, wie die puparisierten Vorderhälften in toto auf Chromatographiepapier aufgetragen. Für ein Chromatogramm benutzen wir je zwei Hälften. Nach der Entwicklung wird die Stoffmenge des Isoxanthopterinflecks direkt aus der Fluoreszenzintensität am getrockneten Papier ermittelt. Als Kontrollen dienen Vorder- und Hinterhälften normal sich entwickelnder Larven und metamorphosierender Puppen. Diese Individuen werden unmittelbar vor dem Auftragen auf das Papier durchschnitten. Die Ergebnisse sind in Abb. 3 dargestellt.<sup>1</sup>

Zunächst stellen wir zu unserer Überraschung fest, dass in den larval bleibenden Hinterhälften die Isoxanthopterinmenge im Verlaufe von 3 Tagen im gleichen Ausmass ansteigt wie im Hinterteil metamorphosierender Kontrollen. Am 4. und 5. Tage nach dem Schnüren finden wir dann allerdings in den Larvalhälften geringere Mengen des Pterins. Offenbar machen sich hier prämortale Abbauprozesse geltend. Die Vorderhälften enthalten stets viel weniger Isoxanthopterin als die gleich grossen Hinterhälften. Aber auch hier zeigen die abgeschnürten Larvalhälften einen Anstieg, der annähernd der Stoffzunahme in metamorphosierten Kontrollen entspricht.

---

<sup>1</sup> Wir danken Frl. Dr. Regula Gloor herzlich für die Mithilfe bei diesem Teil der Untersuchung.

Die Chemogenese des Isoxanthopterins verläuft somit unabhängig von einer mit der Metamorphose einsetzenden Histogenese und Morphogenese.

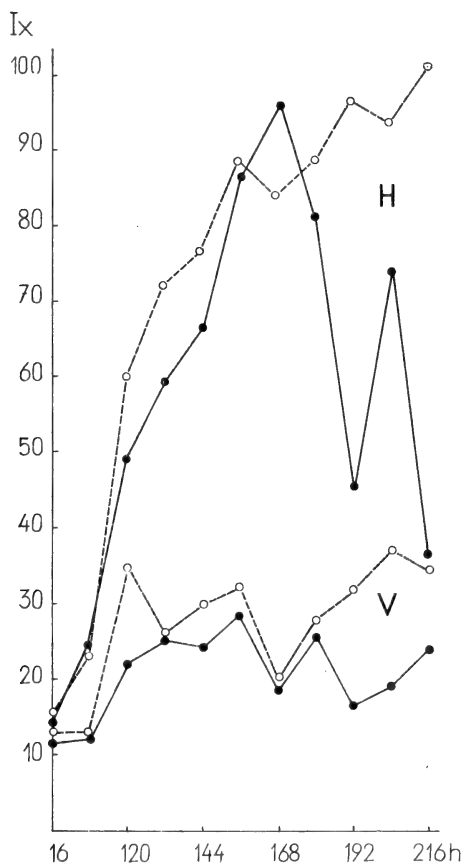


Abb. 3.

Isoxanthopterinmengen (Ix) in willkürlichen Einheiten (Ordinate) zu verschiedenen Zeiten in Stunden nach Eiablage (h, Abszisse). H = abgeschnürte Hinterhälften (gefüllte Kreise oben) und V = abgeschnürte Vorderhälften (gefüllte Kreise unten). Die entsprechenden Kontrollwerte sind mit offenen Kreisen und unterbrochener Kurve angegeben. Kurvenpunkte bezeichnen Mittelwerte aus Messungen an je 5-7 Individuen.

c) *Organspezifisches Auftreten des Isoxanthopterins.* Da das untersuchte Pterin in der Normalentwicklung in höchster Konzentration in den Hoden anzutreffen ist, untersuchten wir sowohl die

Hoden wie auch andere Organe aus solchen abgeschnürten Hinterhälften, die bereits grössere Mengen des Stoffes gebildet hatten. Diesmal wurden je 4 Hoden auf einen Flächenpunkt des Chromatogramms aufgetragen. In total 29 Chromatogrammen, für welche Hoden je nach 12, 24, 36, 48 und 60 h nach der Schnürung verwendet wurden, fanden wir nirgends eine Spur von Isoxanthopterin. Damit steht fest, dass der Hoden in einer nicht metamorphosierten Hinterhälfte zwar die Spermatogenese autonom vollenden kann, dass er aber ohne „Metamorphose-Erlebnis“ weder fähig ist, Isoxanthopterin zu bilden, noch diesen Stoff aus der Umgebung aufzunehmen. Das in larvalen Hinterhälften nachgewiesene Isoxanthopterin wurde dagegen in folgenden Organen angetroffen: wenig in den Malpighischen Gefässen, mehr in den Darmzellen und die grösste Menge im larvalen Fettkörper.

d) *Larvalhoden im Adultmilieu*. Werden Hoden des 3. Larvenstadiums direkt unter Umgehung der Metamorphose in imaginale Abdomina versetzt, so vollenden sie, wie auf S. 585 berichtet wurde, die Spermatogenese. In keinem Falle aber konnte chromatographisch in solchen Implantatshoden Isoxanthopterin nachgewiesen werden. Wiederum ist das Durchlaufen einer Metamorphose die Vorbedingung für das Auftreten dieses „Hodenstoffes“. Gleiches gilt auch für Riboflavin und andere Pterine, die normalerweise im Adulthoden anzutreffen sind.

### 3. DISKUSSION

Wir kennen jetzt eine Gruppe von Entwicklungsvorgängen, die unabhängig von den Metamorphoseprozessen ablaufen. Eine solche autonome Ontogenese ist nachgewiesen für die Spermatogenese und für die Pterinogenese. Dass auch eine Chemogenese, die normalerweise simultan mit der imaginalen Morpho- und Histogenese abläuft, mit diesen Vorgängen nicht kausal verknüpft ist, verdient als Beispiel einer Dissoziation von zeitlich korrelierten Entwicklungsabläufen ein besonderes Interesse.

Das Fehlen von Isoxanthopterin in den sich autonom differenzierenden Hoden wird auf Grund folgender Befunde verständlich:

a) Die Hoden verhalten sich auch in der Normalentwicklung inbezug auf die Isoxanthopterinbildung nicht autonom. Mit

Transplantationsexperimenten konnten HADORN, GRAF und URSPRUNG (1958) zeigen, dass die Isoxanthopterinmenge eines Hodens ein Phän darstellt, das nicht durch die zelleigene Genkonstitution sondern ausschliesslich durch den Genotypus der Umgebung bestimmt wird.

b) Es ist überdies ausgeschlossen, dass ein Hoden selbst Isoxanthopterin herstellen kann, da ihm die Xanthindehydrogenase fehlt (URSPRUNG und HADORN 1961, MUNZ 1964). Dieses Enzym oxydiert das 2-Amino-6-Oxypteridin zu Isoxanthopterin.

c) Wir haben festgestellt, dass das Isoxanthopterin des Hodens ausschliesslich in den Hüllzellen lokalisiert ist. Somit ist es nicht verwunderlich, dass eine fortschreitende Spermatogenese nicht notwendig mit einer Pterinbildung zeitlich korreliert ist.

d) Die Hodenhüllen bleiben sowohl in abgeschnürten Hinterhälften als auch bei Larvalimplantaten im Adultmilieu unpigmentiert larval. Neben dem Isoxanthopterin fehlen dann auch andere Hodenstoffe, wie das gelbe Sepiapterin und das Riboflavin.

e) Die Metamorphose ist die Voraussetzung für das Auftreten von Isoxanthopterin in der Hodenhülle. Nur solche Hüllzellen können das in ihrer Umgebung vorhandene Isoxanthopterin aufnehmen, in denen die Umwandlung zum imaginalen Funktionszustand vollzogen ist.

#### RÉSUMÉ

Chez *Drosophila melanogaster* les stades de la spermatogénèse, dans les abdomens larvaires isolés par une ligature, procèdent au même rythme que chez les contrôles qui subissent la métamorphose. Il en est de même pour les testicules larvaires implantés chez des adultes. Contrairement aux cellules sexuelles, les cellules somatiques de l'enveloppe testiculaire n'atteignent la structure et les caractéristiques chimiques de l'adulte que dans un milieu subissant la métamorphose. Dans les abdomens isolés qui survivent, l'isoxanthoptérine se forme comme chez les contrôles qui se métamorphosent (dissociation de la chimiogénèse d'une part, de la morphogénèse et de l'histogénèse d'autre part). Les cellules de l'enveloppe testiculaire qui n'ont pas subi la métamorphose sont inaptées à collecter l'isoxanthoptérine de leur entourage.



## SUMMARY

In *Drosophila melanogaster* the stages of spermatogenesis in larval abdomens isolated by a ligature, proceed at the same rhythm as in the controls which undergo metamorphosis. This is also the case when larval testes are implanted into adults. In contrast to the sexual cells, the somatic cells of the envelope of the testis are only able to reach the structure and chemical characteristics of the adult in a medium which undergoes metamorphosis. In isolated abdomens that survive, isoxanthopterin is formed as in the controls which undergo metamorphosis (dissociation of chemiogenesis from morpho- and histogenesis). The cells belonging to the testicular envelope which have not been subject to metamorphosis, are unable to accumulate isoxanthopterin from their surroundings.

## LITERATUR

- BODENSTEIN, D., 1947. *Investigations on the reproductive system of Drosophila*. J. of Exp. Zool. 104: 101-151.
- HADORN, E., 1964. *Bedeutungseigene und bedeutungsfremde Entwicklungsleistungen proliferierender Primordien von Drosophila nach Dauerkultur in vivo*. Rev. suisse de Zool. 71: 99-115.
- GRAF, G. E., und URSPRUNG, H., 1958. *Der Isoxanthopterin-Gehalt transplanter Hoden von Drosophila melanogaster als nicht-autonomes Merkmal*. Rev. suisse de Zool. 65: 335-342.
- and MITCHELL, H. K., 1951. *Properties of mutants of Drosophila melanogaster and changes during development as revealed by paper chromatography*. Proc. Nat. Acad. Sci. 37: 660-665.
- HANDSCHIN, G., 1961. *Entwicklungs- und organspezifisches Verteilungsmuster der Pterine bei einem Wildstamm und bei der Mutante rosy<sup>2</sup> von Drosophila melanogaster*. Developmental Biology 3: 115-139.
- MUNZ, P., 1964. *Untersuchungen über die Aktivität der Xanthindehydrogenase in Organen und während der Ontogenese von Drosophila melanogaster* (unveröffentlicht).
- STERN, C., and HADORN, E., 1938. *The determination of sterility in Drosophila males without a complete Y-chromosome*. The Am. Naturalist 72: 42-52.

- URSPRUNG, H., und HADORN, E., 1961. *Xanthindehydrogenase in Organen von Drosophila melanogaster*. *Experientia* 17: 230.
- VOGT, M., 1943. *Zur Produktion und Bedeutung metamorphosefördernder Hormone während der Larvenentwicklung von Drosophila*. *Biol. Zentralblatt* 63: 395-446.
- 

N° 30. **G. de Haller**, Genève. — Altération expérimentale de la stomatogenèse chez *Paramecium aurelia*. (Avec 1 figure dans le texte et 1 planche.)<sup>1</sup>

Institut de Zoologie de l'Université, Genève.

#### INTRODUCTION

La notion de l'autonomie génétique des organelles corticales chez les Ciliés (CHATTON, LWOFF, LWOFF et MONOD 1931a) s'est vue renforcée par l'hypothèse que le centrosome, d'ultrastructure identique à celle des corpuscules infraciliaires, ou cinétosomes, se multiplie de manière autonome. L'idée que non seulement les cinétosomes, mais toutes les composantes du cortex (trichocystes, pores des vacuoles pulsatiles, cytoprocte, pharynx) se multiplient par autoreproduction, acquiert de plus de plus de créance. De nombreux auteurs pensent que la morphogenèse même de la cellule est dirigée chez les Ciliés par les structures morphologiques préexistantes et non par l'information génétique du noyau. Le cas des « doublets » chez *P. aurelia*, cité par SONNEBORN et DIPPELL (1960, 1961, 1962) à l'appui de cette théorie, en est un exemple.

Des recherches récentes ont montré que chez *P. bursaria*, les trichocystes ne se reproduisent pas par division, mais par formation *de novo* sans relation avec les éléments similaires préexistants. Il en est probablement de même des cinétosomes (EHRET et POWERS 1959, EHRET et DE HALLER 1961, 1963). La comparaison des cinétosomes avec le centrosome doit d'ailleurs être faite avec circonspection, car on ne trouve jamais de jeune cinétosome placé à angle

---

<sup>1</sup> Travail effectué grâce à une bourse de l'Académie Suisse des Sciences médicales.

Contribution nb 750 from the Zoological Laboratory, Indiana University, U.S.A. The work of the author was supported in part by the Atomic Energy Commission (U.S.A.) contract nb AT (11-1)-235-11 to T.M. Sonneborn.

droit d'un ancien, disposition bien connue pour les centrosomes (GALL 1961).

La controverse porte également sur les structures pharyngiennes. La stomatogenèse, lors de la division cellulaire et après la conjugaison et l'autogamie, se fait à partir du champ anarchique, situé sur la paroi vestibulaire droite de l'ancien pharynx. Le champ anarchique est un amas de cinétosomes nouveaux. La proximité immédiate de l'ancien pharynx d'une part, d'autre part la nécessité de sa présence (chez *Paramecium*) pour que la nouvelle stomatogenèse ait lieu, semblent parler en faveur de l'autonomie génétique du pharynx (CHATTON, LWOFF, LWOFF et MONOD 1931b). La notion de formation de novo des organelles corticales (EHRET et DE HALLER 1963) s'y oppose au contraire.

La preuve que l'information qui détermine la morphogenèse des structures corticales provient soit du cortex préexistant, soit au contraire du génome chromosomien, ne peut être fournie que par la génétique. *P. aurelia* est un matériel particulièrement favorable pour une telle étude, puisque l'autogamie, grâce à la réorganisation nucléaire, permet de discerner l'origine cytoplasmique ou génique d'une caractéristique donnée. L'objet du présent travail est d'apporter une contribution dans ce sens, en ce qui concerne la morphogenèse du pharynx.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODE

L'expérience a été faite sur *Paramecium aurelia*, syngène 4, stock 51-d4 du laboratoire du professeur Sonneborn, cultivé en infusion de cérophylle avec *Aérobacter* aérogènes.

Production de mutants par la méthode de KIMBALL (1949). Le schéma présenté ici (p. 595) en donne un aperçu. Irradiation aux rayons UV, de 2000 ergs/mm<sup>2</sup>, au moyen d'une lampe germicide. Pendant et après l'irradiation, les cellules étaient maintenues à l'obscurité, afin d'éviter la photoréactivation. 3 heures après, elles étaient isolées. Les cellules qui survivaient à l'irradiation subissaient 10 divisions végétatives, puis dans chacune des lignées ainsi produites, l'autogamie était provoquée par épuisement du milieu. Contrôle de l'autogamie sur un échantillon de chaque lignée par coloration instantanée au carmin acétique — fast green selon DIPPEL (1955). Les lignées où des anomalies morphologiques appa-

rurent après l'autogamie furent fixées et imprégnées à l'argent d'après la méthode « humide » de CHATTON et LWOFF (1930), modifiée selon des conseils oraux du Dr Ruth DIPPEL.

### RÉSULTAT

La série étudiée ici fut de 50 cellules irradiées et de 50 témoins.

#### *Effet direct de l'irradiation :*

Cellules irradiées:	50	Tuées:	22	Survivantes:	28
Témoins non irradiés:	50	»	0	»	50

La survie des irradiées fut de 56%, soit 28 cellules qui se multiplièrent normalement (après un temps de latence variable), sans aucune altération morphologique. Ces lignées furent amenées à l'autogamie.

#### *Effet de l'autogamie sur les lignées des cellules irradiées survivantes :*

Groupe	Nombre de lignées	% (des surviv.)	% (des irrad.)	Effet observé
1	12	43	24	Aucun.
2	6	21,5	12	Mutations diverses, sans effet morphologique discernable.
3	8	28,5	16	Diversité dans la dimension des cellules (cause indéterminée).
4	2	7	4	Diversité de la dimension des cellules, due à l'atrophie du pharynx

Les groupes 3 et 4 se caractérisent par l'apparition, après l'autogamie, de deux sortes de cellules: les unes, en général en très petit nombre, ont un aspect et un comportement normaux. Les autres sont de dimensions réduites, semblables à des cellules en inanition. En outre, une certaine proportion de cellules périssent lors de l'autogamie. La proportion de cellules normales et de cellules petites n'a pas pu être déterminée, les normales se mettant immédiatement à se multiplier.


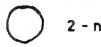












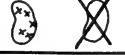
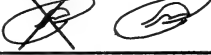
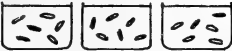
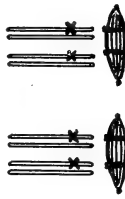
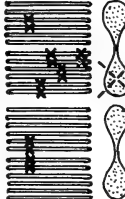
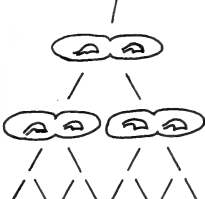

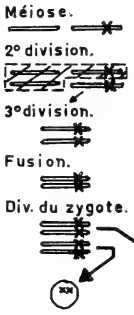

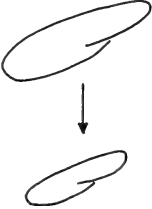
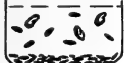



Evènements.	mi-nucl.	Ma-nucl.	Cortex.
Clone. 	 2-n	 poly-n	
Irradiation. UV ..... erg/mm <sup>2</sup> 			
Isolément. 			
Survie. 			
Multiplication végétative. 			
Autogamie. 	Méiose. 2 <sup>e</sup> division. 3 <sup>e</sup> division. Fusion. Div. du zygote. 		Résorption du pharynx.  Stomatogenèse.
Apparition des mutations. 			

SCHÉMA.

Obtention de mutants homozygotes chez *Paramecium aurelia*

Pour les 8 lignées du groupe 3, la carence des cellules petites résidait probablement dans une insuffisance métabolique. Elles étaient morphologiquement normales. Dans les 2 lignées du groupe 4, l'imprégnation argentique révéla chez toutes les cellules petites une atrophie du pharynx. Rappelons que pendant l'autogamie, comme lors de la conjugaison, le pharynx disparaît et qu'un nouveau pharynx est formé immédiatement après. C'est cette nouvelle stomatogenèse qui est altérée dans les deux cas décrits.

*Description de l'anomalie morphologique (Pl. I):*

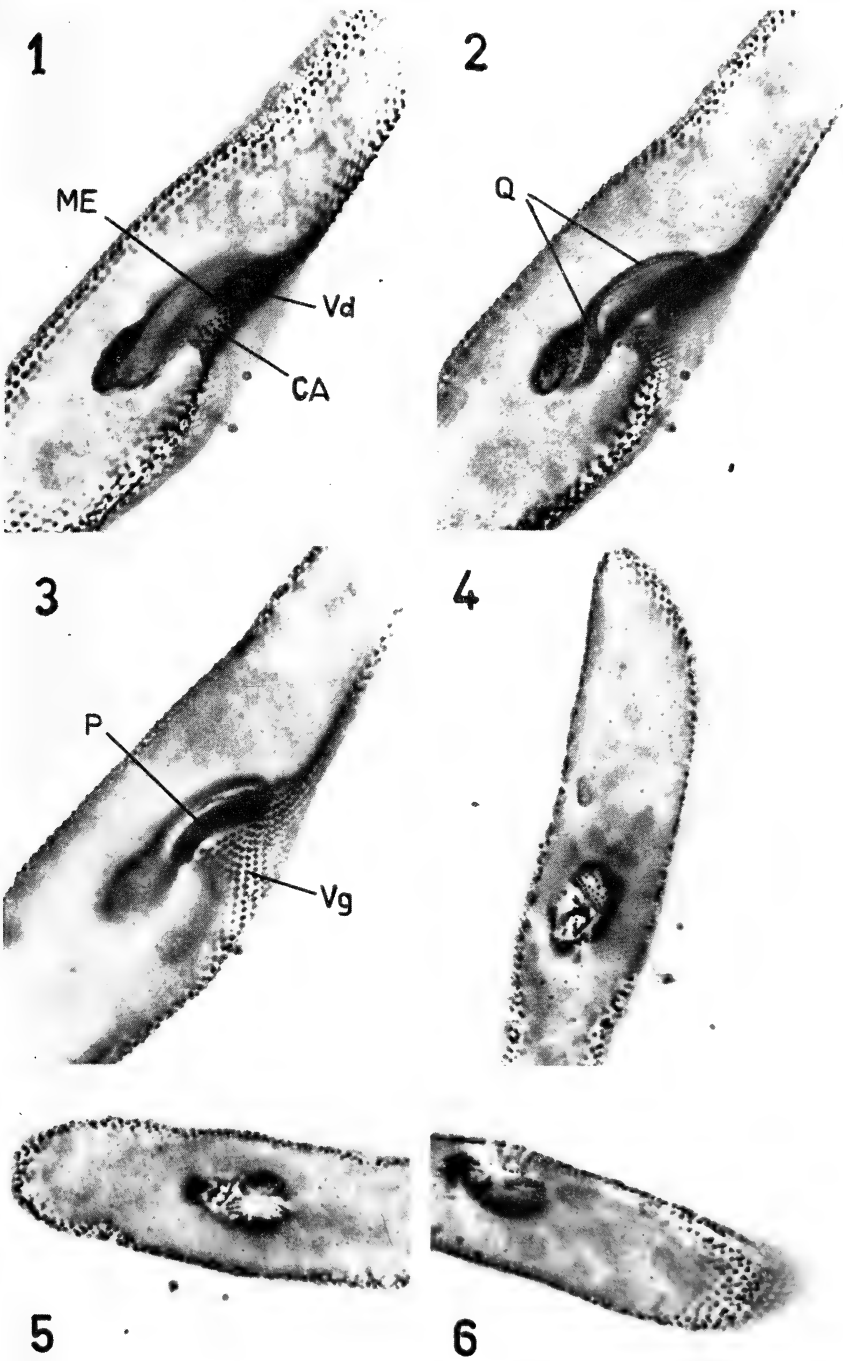
Le pharynx normal est séparé du vestibule sur son côté droit par la membrane endorale (fig. 1). Le fond, ou paroi dorsale, du pharynx porte le quadrulus, formé de quatre lignes de cils (fig. 2). La paroi gauche est tapissée par les deux penniculi, de même composition que le quadrulus, mais plus serrée (fig. 3). Le quadrulus s'enfonce en spirale dans la profondeur du pharynx jusqu'à la région formatrice des vacuoles digestives. L'ensemble du pharynx normal a la forme d'un entonnoir incurvé vers l'arrière.

Les fig. 4-6 représentent 3 exemples de cellules à pharynx atrophié. Elles montrent l'absence de certaines structures et la désorganisation de celles qui subsistent. La membrane endorale est absente; on reconnaît des fragments désorientés de quadrulus ou ce qui peut être interprété comme des penniculi rudimentaires, à structure lâche. Le pharynx est constitué d'une simple cupule creusée à la surface de la cellule, sans ouverture vers l'intérieur. Il est à remarquer que l'anomalie est très uniforme et atteint dans les deux lignées la presque totalité des individus.

#### DISCUSSION

Cette anomalie morphologique du pharynx est forcément létale, les cellules étant incapables de se nourrir. Une étude génétique ultérieure en est donc impossible. Cependant les données de l'autogamie sont suffisamment précises pour que des conclusions utiles puissent être tirées avec certitude des résultats observés.

Après l'irradiation, le cytoplasme et l'ensemble des structures corticales des cellules survivantes se sont montrés normaux pendant au moins dix générations végétatives. Le volume cytoplasmique







et la surface cellulaire ont augmenté dans chaque lignée dans une proportion de 1 à plus de 1000. (1024 si les divisions ont été régulières:  $1 \times 2^{10-1}$ ). 1023 nouveaux pharynx normaux ont été formés. Cette multiplication végétative s'est faite sous le « règne » de l'ancien macro-nucleus, qui ainsi s'est également révélé normal, ou tout au moins totipotent.

Lors de l'autogamie, cet ancien macro-nucleus a disparu. L'ancien micro-nucleus a subi une méiose, qui a ségrégué au hasard les gènes mutés par l'irradiation. La fusion, dans chaque cellule, de deux pronucléi identiques a produit uniquement des homozygotes. On voit alors apparaître diverses aberrations, dans des proportions variables selon le degré d'efficacité de l'irradiation et selon le hasard de la ségrégation méiotique.

Dans deux lignées on observe l'atrophie du pharynx d'une manière très uniforme, sans toutefois que tous les individus en soient atteints. La fréquence des lignées qui présentent cette anomalie (2 sur 50) et le nombre de cellules atteintes dans chaque lignée indiquent qu'un grand nombre de gènes doit être impliqué dans la stomatogenèse. L'absence ou une erreur d'un ou de plusieurs de ces gènes semble inhiber une partie définie de la morphogenèse, selon un processus de tout ou rien. Les rares cellules normales sont celles qui à la méiose ont reçu tous les gènes nécessaires.

Sans approfondir cet aspect génétique de l'atrophie du pharynx, nous pouvons affirmer que nous sommes en présence d'une altération morphologique subséquente à une altération du génome. Il paraît donc évident que l'information morphogénétique est donnée par les gènes.

---

#### PLANCHE I.

##### FIG. 1-3.

Pharynx d'une Paramécie normale. 1: Plan focal supérieur. Paroi droite du vestibule (Vd), se terminant à la membrane endorale (ME). Les cinétosomes en désordre près de la membrane endorale représentent le début d'un champ anarchique (CA). 2: Plan focal médian montrant le quadrulus (Q) sur la paroi dorsale et dans le fond du pharynx. 3: Plan focal profond. On voit la paroi gauche du vestibule (Vg), les deux penniculi (P) et une partie du quadrulus.

##### FIG. 4-6.

Trois exemples de pharynx atrophiés. Quadrulus et penniculi sont désorganisés, la membrane endorale est absente, le pharynx ne s'ouvre pas à l'intérieur de la cellule. Les six figures sont à la même échelle.

Cette conclusion est en opposition avec celle que SONNEBORN et DIPPELL (1960, 1961) et SONNEBORN (1963) tirent de leurs expériences avec les « doublets ». Les doublets sont des cellules qui possèdent deux pharynx, deux cytoproctes, quatre vacuoles pulsatiles, etc. Ils sont obtenus par une opération mécanique qui touche uniquement les structures corticales. On a donc des lignées génétiquement identiques, mais dont le cortex est soit double, soit simple. Des croisements ne parviennent pas à modifier l'état double ou l'état simple. L'état du cortex serait donc déterminé par le cortex préexistant, indépendamment du génome.

En réalité les résultats des deux expériences ne s'opposent pas, mais se complètent, si l'on admet que le rôle du cortex est localisateur et quantitatif, alors que celui des gènes est à proprement parler morphogénétique, qualitatif. Dans le cortex se trouve la possibilité pour les éléments structuraux de se grouper en un champ anarchique. En absence de la zone comprise entre les cinéties de la paroi vestibulaire droite et la membrane endorale, zone probablement de constitution particulière et unique, aucun champ anarchique ne peut se constituer, donc aucun pharynx ne peut se développer. De même, si cette zone est déjà occupée par un champ anarchique, aucun autre ne pourra s'y former. Au contraire, en présence de deux de ces zones, deux pharynx se développent. En ce sens, le cortex joue bien un rôle essentiel dans la formation du nouveau cortex.

Mais par ailleurs, si l'information génique qui dirige la morphogénèse du pharynx fait défaut, un pharynx, même normal et complet, est incapable d'en former un nouveau, comprenant à son tour une zone destinée à un nouveau champ anarchique. C'est ce que prouve l'apparition, lors de l'autogamie, d'une aberration de la stomatogénèse dans des cellules à cortex normal.

Cette conception conduit à mettre en doute tout pouvoir morphogénétique ou simplement autoreproducteur des structures corticales et l'idée d'autonomie génétique qui s'y rattache. La constance même de ces structures n'est d'ailleurs pas prouvée, et une étude en cours indique que des « mutants corticaux » retournent peu à peu à leur type d'origine.

L'hypothèse de la néoformation des composantes cellulaires corticales par une épigénèse dirigée par les gènes semble donc trouver dans les résultats présentés ici un nouvel appui.

Ce travail a été fait lors d'un stage effectué à Indiana University grâce à une bourse de la Fondation pour bourses en médecine et biologie (Académie suisse des Sciences médicales), à qui j'exprime ici ma profonde gratitude.

Ma très vive reconnaissance va au professeur T. M. Sonneborn pour son accueil amical dans son laboratoire et pour les nombreux conseils et entretiens qu'il m'a accordés. Qu'il veuille bien considérer cet article comme un hommage à ses méthodes de travail et à son esprit scientifique. Je remercie aussi tout particulièrement le Dr Ruth Dippell, dont l'aide dans tous les domaines m'a été précieuse.

### RÉSUMÉ

Chez *P. aurelia*, une structure anormale du pharynx a été obtenue dans des lignées issues de cellules irradiées aux UV. Cette stomatogenèse aberrante ne se produisit qu'après une autogamie, induite au moins 10 générations végétatives après l'irradiation. On est en droit d'en conclure que l'information responsable de la morphogenèse du pharynx est d'origine génique et non corticale. Le problème de l'hérédité de l'état « doublet » est discuté.

### SUMMARY

Abnormal cytostomes in the offspring of UV irradiated cells of *P. aurelia* are described. This aberrant stomatogenesis occurred only after autogamy, which had been induced at least 10 vegetative generations after irradiation. Therefore one may conclude that not a cortical, but a genic information is responsible for morphogenesis of the cytostome. The problem of inheritance of the « doublet » condition is discussed.

### ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine abnormale Struktur des Zellschlundes in der Nachkommenschaft UV-bestrahlter *P. aurelia* beschrieben. Diese Abweichung der Stomatogenese entstand erst nach einer Autogamie, die mindestens 10 vegetative Generationen nach der Bestrahlung ausgelöst wurde. Daraus darf geschlossen werden, dass die für die Morphogenese des Zellschlundes verantwortliche Information von den Genen und nicht vom Zellcortex stammt. Das Problem der Vererbung des « doublet »-Zustandes wird diskutiert.

## BIBLIOGRAPHIE

- CHATTON, E., et LWOFF, A., 1930. *Imprégnation, par diffusion argentique, de l'infraciliature des Ciliés marins et d'eau douce, après fixation cytologique et sans dessiccation*. C. R. Soc. Biol., Paris, 104: 834-836.
- LWOFF, A., LWOFF, M., et MONOD, J. L., 1931a. *Sur la topographie, la structure et la continuité génétique du système ciliaire de l'infusoire Chilodon uncinatus*. Bull. Soc. zool. Fr., 56: 367-374.
- 1931b. *La formation de l'ébauche buccale postérieure chez les Ciliés en division et ses relations de continuité topographique et génétique avec la bouche antérieure*. C. R. Soc. Biol., Paris, 107: 540-544.
- DIPPEL, R. V., 1955. *A temporary stain for Paramecium and other ciliate Protozoa*. Stain Technol., 30: 69-71.
- EHRET, C. F., et POWERS, E. L., 1959. *The cell surface of Paramecium*. Int. Rev. Cytol., 8: 97-133.
- et de HALLER, G., 1961. *Formation des organelles et des systèmes d'organelles cytoplasmiques au cours de la division chez Paramecium*. Proc. 1st Intern. Congr. Protozool. Prague 1961: 419-420.
- et de HALLER, G., 1963. *Origin, development, and maturation of organelles and organelle systems of the cell surface in Paramecium*. J. Ultrastr. Res. Supp. 6.
- GALL, J. G., 1961. *Centriole replication*. J. biophys. biochem. Cytol. 10: 163-193.
- KIMBALL, R. F., 1949. *Inheritance of mutational changes induced by radiation in P. aurelia*. Genetics, 34: 412-424.
- SONNEBORN, T. M., 1960. *The gene and cell differentiation*. Proc. Nat. Acad. Sci., 46: 149-165.
- 1992. *Does Preformed Cell Structure Play an Essential Role in Cell Heredity?* in: *The Nature of Biological Diversity*. Éd. J. M. Allen (McGraw-Hill Book Co. New-York): 165-221.
- 1963. *Bearing of protozoan studies on current theory of genic and cytoplasmic action*. Proc. XVI Intern. Zool. Congr., vol. 3/4 (sous presse).
- et DIPPELL, R. V., 1960. *The genetic basis of the difference between single and double Paramecium aurelia*. J. Protozool. 7 suppl. (abstr.).
- et DIPPELL, R. V., 1961. *Self-reproducing differences in the cortical organization in P. aurelia, syngen 4*. Genetics, 46: 900.

Nº 31. **J. Kälin**, Fribourg. — Zur evolutiven Deutung des Extremitäten-Typus bei Pongiden und Hominiden.

In der Frage nach den phylogenetischen Beziehungen zwischen Pongiden und Hominiden spielen die Extremitäten eine besondere Rolle. Während in diesem Zusammenhang ältere Autoren wie MORTON, KEITH, GREGORY u.a. ihr Augenmerk zur Hauptsache auf die anatomische Konstruktion des Fusses richteten, steht in neueren Arbeiten die Diskussion darüber im Vordergrund ob die Extremitäten der Hominiden von jenen Verhältnissen ableitbar seien, wie sie bei den Brachiatoren unter den höheren Catarrhinen, also bei den Pongiden, insbesondere an den vorderen Extremitäten, verwirklicht sind.<sup>1</sup>

Aber bei den Pongiden sind zwei Modi der arborikolen Lokomotion kombiniert, denen morphologische Spezialisierungen entsprechen, von welchen jene des Stemmgreifkletterns im Wesentlichen an der hinteren, diejenige der Brachiation aber vor allem an den vorderen Extremitäten zum Ausdruck kommen. Daraus ergibt sich, dass die einseitige Blickrichtung auf die Brachiation für eine optimale hypothetische Vorstellung über die Extremitätenkonstruktion des phyletischen Wurzelfeldes aus welchem die Hominiden hervorgegangen sind, keine genügende Voraussetzung bietet.

Die in diesem Zusammenhang wichtigen Dokumente der *Proconsul*-Gruppe aus dem Miocaen von Rusinga-Insel, sowie die ebenfalls miocaenen Funde welche 1960 ZAPFE von *Pliopithecus vindobonensis* beschrieben hat, stehen zweifellos im Wurzelfeld der Pongiden, zeigen aber im wesentlichen eine Konstruktion der Extremitäten, welche dem Typus der *Cercopithecoidea* entspricht. Die zahlreichen Merkmale divergenter evolutiver Trends zwischen Pongiden und Hominiden, die sich namentlich an den hinteren Extremitäten nachweisen lassen, sowie die vielen Züge in denen die letzteren dem typophänen Zustande der Catarrhinen näher stehen, sind ein Hinweis darauf, dass für das gemeinsame phyletische

---

<sup>1</sup> Die ausführliche Arbeit wird in den *Folia Primatologica* (Verlag Karger, Basel) erscheinen.

Wurzelfeld der genannten Gruppen eine Extremitätenkonstruktion anzunehmen ist, die im wesentlichen dem Typus der *Cercopithecoidea* entsprach. Das wird durch die Befunde an der *Proconsul*-Gruppe wie an *Pliopithecus vindobonensis* bestätigt.

Da die brachiatorische Lokomotion ohne entsprechende morphologische Spezialisierung möglich ist, und bei den Pongiden die Spezialisierungen von Stemmgreifextremität und brachiatorischer Konstruktion sich kombinieren, wird eine Terminologie vorgeschlagen durch welche die Modi der Lokomotion und der anatomischen Konstruktionen sachgerecht koordiniert sind.

#### SUMMARY

A comparison of the anatomy of the extremities of Pongids and Hominids has lead the autor to the conclusion that in the hypothetical common ancestor of the two families the "brachiating-structure", typical for recent Pongids, was not realized.

A terminology, corresponding to the correlations between types of moving and anatomical structures, is proposed.

A paleontological study of the genus *Proconsul* and of *Pliopithecus vindobonensis* confirms the opinion that the structure of the limbs in the common ancestral origin of Pongids and of Hominids was close to that of the Cercopithecids.

#### RÉSUMÉ

En comparant la structure anatomique des extrémités chez les Pongidés et les Hominidés, l'auteur arrive à la conclusion que les Catarrhiniens ancestraux qu'il suppose être la souche commune de ces deux familles — quant à la construction de leurs membres — ne présentaient pas les spécialisations de type « brachiating » des Pongidés.

L'étude des documents paléontologiques du genre *Proconsul* et de *Pliopithecus vindobonensis* confirme la conclusion que la disposition anatomique des extrémités chez la souche commune des Pongidés et des Hominidés était proche de celle des Cercopithécidés.

L'auteur propose une nouvelle terminologie qui permet d'exprimer les relations entre les types de locomotion et la structure anatomique.

N<sup>o</sup> 32. **E. Kunz und M. Reiff**, Basel. — Wachstum und Nahrungsauswertung coeektomierter Ratten. (Mit 4 Abbildungen und einer Tabelle.)

Zoologische Anstalt der Universität Basel und Forschungslaboratorien  
J. R. Geigy A. G., Basel.

#### PROBLEMSTELLUNG

Alle Nagetiere, mit Ausnahme der Schläfer, weisen an der Übergangsstelle Dünndarm — Dickdarm einen stark entwickelten Blinddarm auf, in dessen Inhalt wir eine äusserst keimreiche *Coli*-flora vorfinden, welche zusätzlich coecum — spezifische Formen aufweist. Durch teilweise Entleerung des Coecums entsteht periodisch eine besondere Kotart, welche nach HARDER, im Gegensatz zum Normalkot (Hartkot), mit Coecotrophe (Weichkot) bezeichnet wird. Nager beiderlei Geschlechts fressen diesen Blinddarmkot begierig, weshalb diese spezielle Art von Coprophagie in der deutschsprachigen Literatur mit Coecotrophie bezeichnet wird.

Wenn auch dieses Phänomen vielfach untersucht worden ist, konnte das Wesen der Coecotrophie bis heute noch nicht erklärt werden, finden wir doch in der Literatur eine Fülle sich widersprechender Behauptungen.

Während z.B. FRANK et al. (1951) die Coecotrophie als Lebensnotwendigkeit betrachtet und bei deren Verhinderung Letalität bei Meerschweinchen und Mäusen feststellt, besitzt sie nach BARNES et al. lediglich appetitstimulierenden Charakter (Eine ausführliche Diskussion der Literatur erfolgt in einer späteren Arbeit).

Diese Situation veranlasste uns, mit neuen Versuchsanordnungen die Probleme der Coecotrophie und der physiolog. Bedeutung des Blinddarmes bei Ratten erneut zu untersuchen.

## VERHINDERUNG DER COECOTROPHIE

Die gebräuchlichen Methoden, Nager am Kotfressen zu hindern, sind von uns getestet worden und erwiesen sich nach eingehender Prüfung als ungeeignet. Wohl fällt bei der Haltung der Tiere in Gitterkäfigen der Kot durch den grobmaschigen Gitterboden hindurch, bei der Kotabgabe jedoch pflegen die Ratten ihren Weichkot direkt am Anus abzufangen. Eine Verbesserung dieser Versuchsanordnung nach HARDER, den Tieren zusätzlich einen Pappkragen um den Hals zu befestigen, wirkt sich in einer starken physischen und psychischen Belastung aus. Ebenso beeinträchtigt wird das Verhalten der Versuchstiere durch das Anbringen eines Kotauffanges, z.B. kleiner Plasticflaschen am Hinterleib der Tiere, wie es BARNES et al. (1963) durchführten.

Diese unbefriedigenden Resultate zwangen uns zur Untersuchungsmethode über den Weg der Coecektomie.

## COECEKTOMIE

Zur Operation wurden Ratten von 30—40 g Körpergewicht verwendet. Nach den, für eine Operation üblichen aseptischen Vorsichtsmassnahmen, wird die Bauchhöhle auf der linken Seite durch einen 12—15 mm langen Schnitt geöffnet und anschliessend der Blinddarm, welcher in diesem Stadium etwa 12—15 mm lang ist, herausgezogen. Bei diesen Jungtieren bildet der Dickdarm die unmittelbare Fortsetzung des Dünndarmes, an deren Übergangsstelle der Blinddarm lateral ansetzt. Die dünne Fascie, welche Coecum und Colon miteinander verbindet, wird durchgetrennt, und anschliessend der Blinddarm unmittelbar an der Basis durchgeschnürt. Eine sorgfältige Ligation ermöglicht uns, sämtliches Blinddarmgewebe vom Dünndarm-, bzw. Dickdarmgewebe, abzutrennen. 2—3 mm distal dieser Abschnürung, welche zugleich die ileocoecalen Blutgefässe unterbindet, wird das Coecum abgetrennt. Der kleine Stummel von Blinddarmgewebe wird desinfiziert und mit 3 Haften nach dem Lembert'schen Prinzip, kreuzweise angeordnet, zu einer Gewebekugel zusammengezogen. Dass kein Auswachsen dieses Blinddarmepithelrestes von ca. 2—3 mm  $\varnothing$  mehr erfolgt, beweisen uns die Sektionen adulter, coecektomierter Tiere (Abbildungen 1—4).



Von den bisher vorliegenden Ergebnissen werden hier lediglich die Wachstumsverhältnisse coeektomierter Ratten besprochen.

#### VERSUCHSANORDNUNG

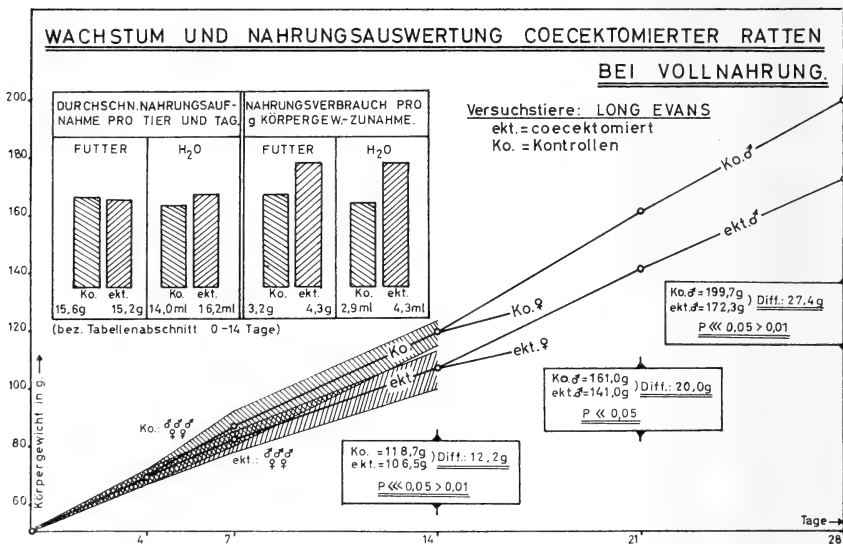
- Parallele Einzelhaltung von normalen und coeektomierten Tieren in Stoffwechselkäfigen mit Gitterboden, welche den Kot zurückhalten und somit Coprophagie erlauben.
- Als Nahrung erhalten alle Tiere ein in Bezug auf Mineralien, Vitamine und Grundstoffe optimales Futter in Form von Presslingen sowie Wasser, ad libitum.
- Die tägliche Bestimmung der aufgenommenen Futter- und Wassermenge, sowie des Körpergewichtes, bilden die Grundlagen für die folgenden Aussagen.
- Um die Variabilität des Versuchsmaterials einzuschränken und dadurch die Aussagekraft der Resultate zu erhöhen, wurden von demselben Wurf jeweils dieselbe Anzahl Jungtiere gleichen Geschlechts einerseits coeektomiert, andererseits als Kontrollen (nach erfolgter Kontrolloperation) verwendet. Dabei bilden die Tiere desselben Wurfs unter sich je eine Einheit, die auch in der Haltung (Batterieanordnung) berücksichtigt wird.
- Um Besonderheiten eines Rattenstammes zu eliminieren, werden Tiere zweier verschiedener Stämme, Wistar und Long Evans, verwendet.

Wie erwähnt, wird die Coeektomie an Jungtieren mit einem Körpergewicht von 30—40 g durchgeführt. Als Folge des Eingriffs zeigen die Tiere in den ersten postoperativen Tagen eine Retardation des Wachstums, welche bei kontrolloperierten Tieren (Eingriffe ohne Coeektomie) weniger stark ausgeprägt ist. Aus diesem Grunde kann ein Wachstumsvergleich blinddarmloser Tiere mit ihren Kontrolltieren nur über eine Korrektur erfolgen, die darin besteht, dass diese Erholungsphase unberücksichtigt bleibt. Für die Resultatbewertung wurde als Ausgangspunkt das Erreichen von 50 g Körpergewicht gewählt.

Die Tatsache, dass die Gewichtszunahme junger Ratten bis zu ca. 120 g Körpergewicht unabhängig vom Geschlecht der Tiere erfolgt, ist in der Tabelle (S. 606) berücksichtigt worden.

## RESULTATE

Während den ersten 4 Tagen nach Erreichen von 50 g Körpergewicht, verläuft das Wachstum coeektomierter Ratten parallel demjenigen der Kontrolltiere, was schon vor Erreichen der 50 g — Gewichtsgrenze nachweisbar ist. Dies darf als Beweis gelten, dass die blinddarmlosen Tiere den Eingriff gut überstanden haben und anfänglich noch zu einem normalen Wachstum befähigt sind.



Immer deutlicher zeichnet sich jedoch im Laufe der weiteren Entwicklung eine Gewichtsdivergenz zwischen den ektomierten Tieren und ihren Kontrollen ab, welche für Long Evans schon nach zwei Wochen 12 g beträgt, statistisch nachweisbar mit  $P$  grösser 0,05, knapp 0,01. Bezogen auf die Wachstumsrate von 70 g bei den Kontrollen, beträgt diese Differenz 17%. Dass dieser gesicherte Wachstumsunterschied nicht durch eine geringere Futteraufnahme seitens der ektomierten Tiere bedingt ist, zeigt die Tatsache, dass die Coeektomierten während dieser Untersuchungsphase gegenüber den Kontrollen adequate Mengen Futter und sogar mehr Wasser konsumieren. Berechnen wir aus diesen Daten den durchschnittlichen Nahrungsverbrauch pro g Körpergewichtszunahme, so

zeigt sich deutlich die schlechtere Nahrungsauswertung der blinddarmlosen Tiere (Tab. S. 606).

Im weiteren Verlauf des Wachstums vergrößert sich die Gewichts Differenz der coeektomierten Männchen: nach drei Wochen auf 20 g, am Ende der 4. Woche sogar auf 27 g (Werte ebenfalls statistisch gesichert mit  $P$  grösser 0,05).

Im Gegensatz zu dieser Wachstumstendenz der Männchen, scheinen die operierten Weibchen in ihrer weiteren Wachstumsphase nicht mehr stark von den Kontrolltieren abzuweichen. Dieser Wachstumsverlauf konnte jedoch noch nicht eindeutig bewiesen werden.

Die Untersuchungen mit Ratten von Stamm Wistar zeigen generell dieselben Ergebnisse.

Als einzige Ausnahme ist zu erwähnen, dass von 20 Coeektomierten 2 Tiere keine Gewichtsdepression, sondern ein sogar den Kontrolltieren überlegenes Wachstum aufwiesen. Dieses Phänomen lässt sich vorläufig noch nicht erklären. Der Sektionsbefund hat für beide Tiere gezeigt, dass die Operation erfolgreich war und ausser hypertrophierten Lymphdrüsen am Dünndarm konnten keine Abnormitäten festgestellt werden. Ob dieses extreme Wachstum durch eine besondere Darmflora bedingt ist, muss noch abgeklärt werden.

#### DISKUSSION

Zur Zeit wird untersucht, welche mit dem Blinddarmmetabolismus zusammenhängenden Stoffe für diesen Wachstumsverlauf verantwortlich sind. Die Gewichtsdivergenz der beiden Tiergruppen beweist, dass die wachstumsstimulierende Wirkung blinddarmabhängig ist.

Dafür spricht einerseits das Normalwachstum kurz nach der Operation, solange noch eine stoffliche Reserve vorhanden ist. Andererseits stellt sich in der späteren Wachstumsphase, nach Verbrauch dieser Reserve, eine Gewichtsdepression ein, da bei Fehlen des Coecums diese Stoffe nicht mehr gebildet werden können.

Ob die bei blinddarmlosen Tieren beobachtete Coprophagie (vergl. Abb. 4, S. 608) der Coectotrophie gleichzusetzen ist, also echtem Bedürfnis und keiner Gewohnheitshandlung entspricht, sollen weitere Untersuchungen zeigen. Wir hoffen, mit Hilfe von

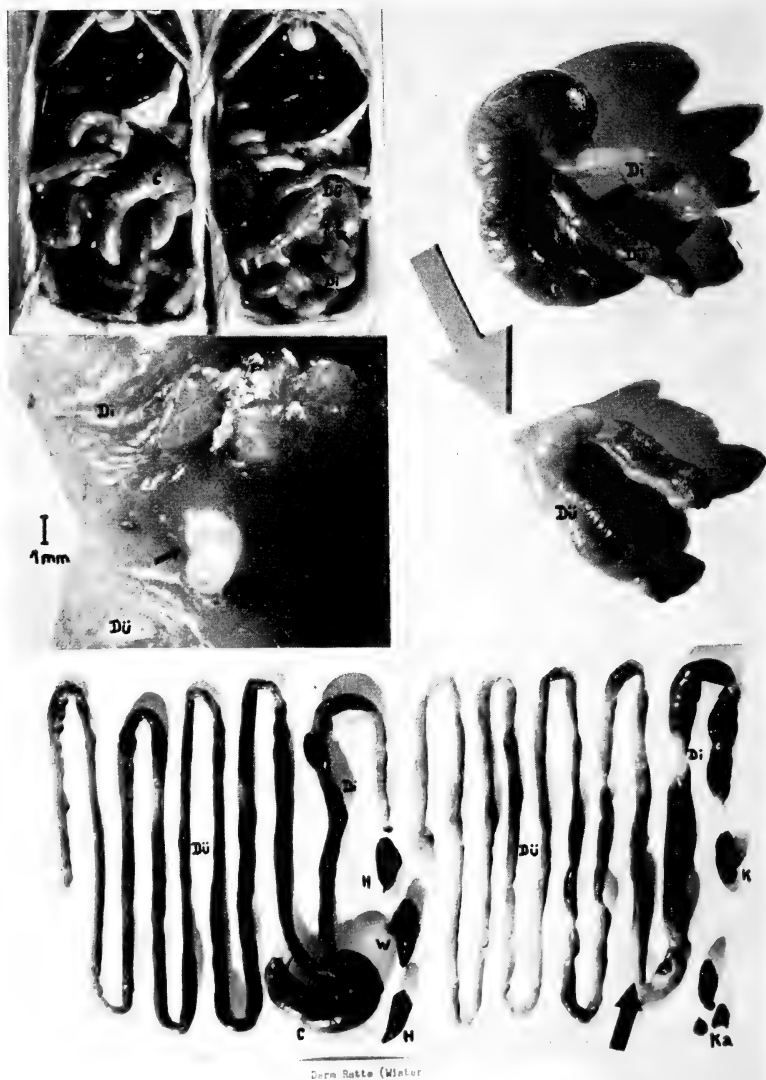


ABB. 1.

Ratte (Long Evans), Situs;

*a)* normal, gleiches Alter wie *b)* 3 Wochen nach Coeektomie.

ABB. 2.

Übergang Dünndarm-Dickdarm;

*a)* normal mit Coecum; *b)* 5 Wochen nach Coeektomie.

ABB. 3.

Operationsstelle stark vergrößert (5 Wochen nach Coeektomie).

ABB. 4.

Ratte (Wistar), Darmtrakt: *a)* normal, von 1*a*; *b)* coeektomiert, von 1*b*.

Dü = Dünndarm, Di = Dickdarm, C = Coecum, H = Hartkot,

W = Weichkot, K = Kot ektomierter Tiere (*a* = angefressen),

→ Operationsstelle.

Biotesten, verschiedenen Diäten und Kotanalysen weitere Resultate über die Funktion des Blinddarmes zu erhalten.

### ZUSAMMENFASSUNG

Eine Operationsmethode wird beschrieben, welche vollständige Coeceptomie bei Ratten garantiert.

Bei Vollnahrung ad libitum sind die blinddarmlosen Ratten voll lebensfähig und weisen keine Mangelercheinungen auf. Unsere Untersuchungen beweisen, dass Coeceptomie bei Ratten zu einem verminderten Wachstum führt. Dieses Mindergewicht ist nicht durch kleinere Nahrungsaufnahme gegenüber den Kontrolltieren bedingt.

Coeceptomierte Ratten zeigen Coprophagie.

### SUMMARY

A surgical method for the complete removal of the caecum in rats is described.

If fed with a complete food at libitum, caeceptomised rats are capable of living without showing signs of deficiency. These experiments prove, that total caeceptomy causes a decreased growth in the young rat. The smaller gain of weight is not due to a reduced feed consumption.

Caeceptomised rats practise coprophagy.

### RÉSUMÉ

Une technique d'ablation totale du cæcum chez le rat est décrite.

Les rats privés de cæcum ne montrent aucun symptôme de déficience quand ils disposent, à satiété, d'une alimentation complète. Chez les jeunes, la croissance est ralentie. Le retard ne résulte pas d'une moindre alimentation.

Les rats privés de cæcum pratiquent la coprophagie.

---

- N<sup>o</sup> 33. **H. Mislin und R. Krause** (Techn. Assist.). — Die Schrittmachereigenschaften des Herzschlauchs von *Ciona intestinalis* L. und ihre Beziehung zur Reversion des Herzschlags.<sup>1</sup> (Mit 8 Textabbildungen und 4 Tabellen).

Universität Mainz und Institut de Biologie Marine Arcachon.

#### EINLEITUNG

Das Phänomen der Schlagumkehr des Herzens wurde von Marcello MALPIGHI um 1660 beim Dorsalgefäß der Seidenraupe entdeckt. Bei *Ciona intestinalis* L. haben es KUHN und VAN HASSELT 1821 erstmals beschrieben. Seither ist das Phänomen der Reversion des Herzschlags bei zahlreichen Embryonalherzen von Wirbellosen und Wirbeltieren, aktiv pulsierenden Blutgefäßen und diversen Insektenherzen gefunden worden. Über 50 Arbeiten befassen sich mit diesem Spezialproblem der Tunikaten-Herzphysiologie, ohne eine Aufklärung des Mechanismus der Schlagumkehr finden zu können. Die Behauptung v. BUDDENBROCKS, es sei „sichergestellt, dass die Umkehr auf einem Rivalisieren der beiden Herzhälften beruht“ hat sich in Lehre und Forschung festgesetzt. Erst in neuerer Zeit ist das Problem durch die Kontroverse von HAYWOOD, MOON und MILLAR und durch die grosse Zusammenfassung von B. J. KRIJGSMAN (1956) wieder aktualisiert worden. Vor allem ergab sich, dass mehrere strukturelle und funktionelle Grundlagen der Tunikaten-Herzorganisation noch ungenügend bearbeitet waren: 1. Das kontraktile System des Herzschlauches war cytologisch nur oberflächlich beschrieben worden. 2. Das Schrittmachersystem war in seiner diffusen Natur ungenügend charakterisiert und noch nicht lokalisiert worden. 3. Eine extracardiale Regulation blieb zweifelhaft. 4. Aktionspotentiale wurden ungenügend abgeleitet. In einer vor kurzem erschienenen vorläufigen Mitteilung (MISLIN 1964) konnten wir zu den hier erwähnten Punkten 2 und 4 neue experimentelle Befunde vorlegen.

---

<sup>1</sup> Durchgeführt mit Hilfe eines Forschungskredites der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

## STRUKTURELLES

Der kontraktile Apparat des Tunikatenherzens besteht, wie W. SCHULZE (1964) soeben für *Ciona intestinalis* L. mit elektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen konnte, aus einschichtigen, echten Epithelmuskelzellen. Die Myofibrillen sind auf das obere Zelldrittel beschränkt und enthalten locker liegende Myofilamente von einfacher Querstreifung. Die Aufklärung der Ultrastruktur der Wandung des Herzschlauchs von *Ciona* erweist eine singuläre Struktur und zeigt somit keine Ähnlichkeit mit anderen Chordaten bzw. Vertebratenherzen.

## FUNKTIONELLE FAKTOREN

Wie früher bereits BACQ und neuerdings KRIJGSMAN mit pharmakologischen Methoden wahrscheinlich gemacht haben, fehlt *Ciona* eine extracardiale Regulation vom Typ cholinерger oder adrenerger Nerven (1964). Die Existenz einer Innervation der Wandung des Herzschlauchs konnte auch histologisch nicht festgestellt werden. Die Lokalisation des Schrittmachers, die bis jetzt nicht befriedigend gelungen ist, dürfte mit Mikroelektroden in den einzelnen Epithelmuskelzellen möglich sein, da als sicher anzunehmen ist, dass die Herzautomatie eine Epithelial-Myogene ist.

## NEUE FRAGESTELLUNG

Nachdem wir vor kurzem zeigen konnten, dass die diffuse Automatie des Herzschlauchs von *Ciona intestinalis* L. homogen-ubiquitär ist und die Hauptursache der Reversion des Herzschlags nicht in der alternierenden Dominanz der „Endzentren“ zu sehen ist, sollte die elektrische Aktivität des Herzschlauchs im Zusammenhang mit der Schlagumkehr untersucht werden. Dies führte zum Nachweis einer der Umkehr vorausgehenden spontanen Extrasystolie und zur Auffassung, dass die periodischen Reversionen des Herzschlags der Tunikaten nur als Leistung des gesamten Schrittmachersystems zu verstehen sind.

## METHODIK

Die Untersuchungen wurden fast ausschliesslich am Herzschlauch von *Ciona intestinalis* L. innerhalb des Pericards ausgeführt. Nach Fensterung des Mantels und des Hautmuskelschlauchs gelingt es leicht, den Pericard-Herzkomplex aus dem Körperinnern hervortreten zu lassen, so dass er zu seinem grösseren Teil im Meerwasser flottiert und im durchfallenden Licht langfristig untersucht werden kann. Wird der Organkomplex vom Kreislaufzusammenhang abgetrennt und vollständig isoliert, so zeigt der Herzschlauch über viele Stunden hinweg sehr regelmässige Aktivität. Die Ableitung der Aktionspotentiale erfolgte wie bei unsern bisherigen Blutgefässuntersuchungen mittels Platin-Aspirationselektroden vom Mikromanipulator aus. Die Elektrodenhalterung aus Plexiglas enthält den 100  $\mu$  starken Pt-Draht der über einen Cu-Draht mit dem Steckkontakt verbunden ist. Flexible, abgeschirmte Leitkabel verbinden die differente Platin- und die indifferente Graphit-Elektrode zum Registriergerät. Der aus der Plexiglasspitze ca. 30 mm vorragende Pt. Draht wird mit einer fein ausgezogenen Glaskapillare überzogen. Die endgültige Elektroden spitze sitzt in einem sehr kurzen Schlauchverbindungsstück aus PVC-Material, welches an der Plexiglasspitze mit Allergit abgedichtet wird. Der innere Kapillardurchmesser beträgt 50—70  $\mu$ , so dass der Pt-Draht relativ nahe an die Elektroden spitze vorgeschoben werden kann. Der seitliche Ansaugstutzen des Elektrodenkörpers steht nur mit dem Lumen der Glaskapillare in Verbindung. Mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe wird ein Gewebepropf aus Pericard und Herzschlauch in die Elektroden spitze gerade dicht sitzend eingesaugt. Das Vakuum wird mittels spezieller Schlauchklammern sicher gehalten. Es ist selbstverständlich, dass für einwandfreie Potentialableitungen nur besonders gut abgedichtete Aspirationselektroden verwendet werden können. Die Registrierung der Aktionsströme erfolgt mit einem Elektroencephalographen (Schwarzer) mit RC- und Gleichstromverstärkern bei Direktschreibung. Bei der Registrierung mit RC-Verstärkern liegt die Wahl der Zeitkonstanten im Bereich von 0,1—0,5 sec, was, wie die Erfahrung zeigt, für die Potentialformen bedeutungslos ist. Die häufigsten Registrierungen lagen bei 0,1 sec und 70 Hz. Zur Funktionsanalyse der aktiven Kontraktionswelle und der Reversion des Herzschlags wurde das Elektrogramm synchron mit dem Myogramm aufgenommen. Dabei wurde streng darauf geachtet, dass beide Messwerte von ein und derselben Ansaugstelle stammten. Diese Stelle wurde über ein Objektiv und ein Prisma mit rechtwinklig abgelenktem Strahlengang auf ein Selen-Photoelement projiziert. Die Kontraktionsbewegungen ergeben Schwankungen der Belichtungsintensität, bzw. des photoelektrischen Stroms, welche direkt dem Registriergerät zugeleitet werden. Für die Aufzeichnung des Myogramms wurde regelmässig eine Zeitkonstante von 1,0 sec bei 70 Hz gewählt.



## VERSUCHSRESULTATE

Lokalisation des Schrittmachersystems: (Durchschneidungs- und Ligaturexperimente) Zunächst bestätigten wir den klassischen Versuch von J. LOEB (1899) wonach jede Herzhälfte eines in der Mitte durchschnittenen *Ciona*-Herzens vom Herzende zur Mitte hin schlägt. Nur müssen wir feststellen, dass die Schlagrichtung nicht dauernd festgelegt ist. Wird zuerst eine Ligatur in der Herzmitte angelegt, an einem Herzschlauch der zuvor vom hypobranchialen Ende zum visceralen Ende pulsierte, so blieb die Schlagrichtung für die hypobranchiale Herzhälfte unverändert, während die viscereale Hälfte Reversion zeigte und nach der Mitte hin pulsierte. Wurde jetzt an der Ligaturstelle durchschnitten, so konnte die viscereale Herzhälfte erneut Schlagumkehr zeigen und nun von der Mitte (Schnittstelle) nach dem visceralen Ende hin pulsieren. Häufig fanden wir nach Abschneiden der natürlichen Herzenden am restlichen Herzpräparat Beibehaltung der ursprünglichen Richtung der Kontraktionswelle. Die spontanen Erregungswellen können an den verschiedensten Stellen des Herzschlauches gebildet werden. Nicht selten laufen Kontraktionswellen von der Herzmitte aus nach beiden Enden. Bemerkenswert ist es auch, dass die Pulsfrequenz am ganzen isolierten Herzschlauch spontan zu- oder abnehmen kann, ohne dass äussere Reize einwirken müssen. Fragmente eines Herzschlauches können dieselbe Herzfrequenz wie der intakte Herzschlauch zeigen. Nicht selten erhielten wir bei einem ausgeschnittenen Stück aus der mittleren Herzregion die maximale Pulsfrequenz. Das kleinste Herzfragment mit aktivem Puls betrug 0,1 auf 0,2 mm.

Aus diesen Befunden ergibt sich, dass der Schrittmacher an sehr verschiedenen Orten des Herzschlauches etabliert werden kann und dass jedenfalls nicht die Herzenden als obligatorisch führende Schrittmacher aufgefasst werden dürfen. Das Faktum, dass meistens die natürlichen oder aber auch künstlichen Herzenden leicht zu Erregungsbildungszentren werden und dann Schrittmacher-Dominanz zeigen, berechtigt keinesfalls zur Annahme einer grundsätzlichen funktionellen Differenzierung. Unsere bisherigen Experimente lassen vielmehr die diffuse Automatie als ubiquitär und über den ganzen Herzschlauch hinweg homogen verteilt erscheinen.



detailliertere Kenntnis des strukturellen Aufbaus der Herzwand von *Ciona* voraussetzt, vor allem auch Erfahrungen über den Erregungsbeginn, bzw. die Unterschiede in den verschiedenen Epithelmuskelzellen und die Art der Erregungsleitung in den verschiedenen erregten Einzelzellen. Es fällt auf, dass wir bei relativ grösserem Ansaugpropf zuweilen nur Einzel-Spikes ableiten, während bei relativ kleinen Propf, Doppel-Spikes nicht weniger häufig sind. Der Vergleich ein und desselben Aktionspotentials wechselstromverstärkt und gleichstromverstärkt (Abb. 4) zeigt sehr einfache Potentialverhältnisse, wie wir sie früher schon bei aktiv pulsierenden Blutgefässen gefunden haben. Die Amplituden liegen zwischen 15 und 270  $\mu$ V. Zu den EKG-Untersuchungen an der Ascidie *Perophora orientalis*, von A. Ebara (1957) werden wir in einer nachfolgenden Arbeit Stellung nehmen.

TAB. 1.

*Schlagumkehr und Pulsfrequenz in Beziehung zur Pause.*

Schlagumkehr (S. U.)	Frequenz vor S. U. (f/min.)	Pause (sec)	Frequenz nach S. U. (f/min)
Spontan	42	1,6	40
Spontan	46	1,4	42
Spontan	46	1,2	34
Spontan	24	2,2	36
Nach Kälte	32	4,2	34
Nach Kälte	36	2,0	40
Während 3 V	56	2,2	54
Nach 6 V =	44	3,0	24
Spontan	34	ohne Pause	46
Spontan	42	» »	42
Spontan	42	» »	34
Spontan	44	» »	38
Nach Kälte	42	» »	42
Nach Wärme	36	» »	36
Nach 3 V	56	» »	58
Während 3 V =	50	» »	52

*Ciona intestinalis* L. 25° C.

#### ELEKTRISCHE AKTIVITÄT UND SCHLAGUMKEHR

Wie wir vor kurzem gezeigt haben, treten unmittelbar vor der Reversion des Herzschlags spontane Extrasystolen auf, die, wenn

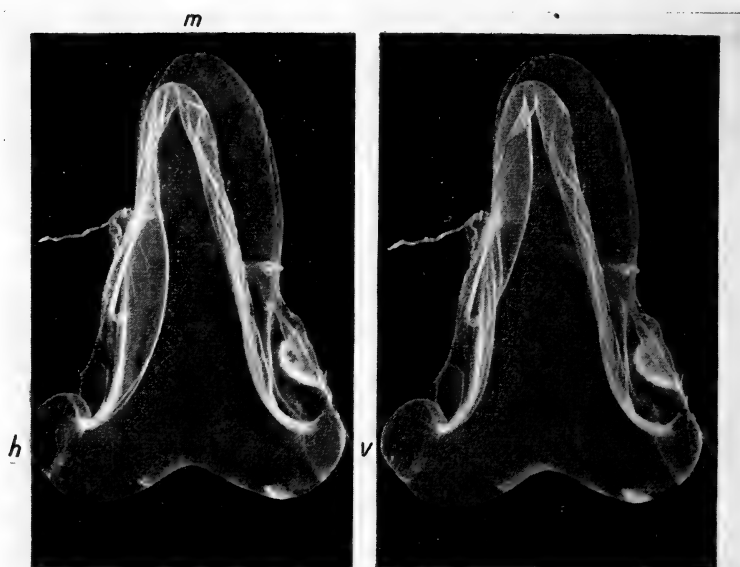


ABB. 2.

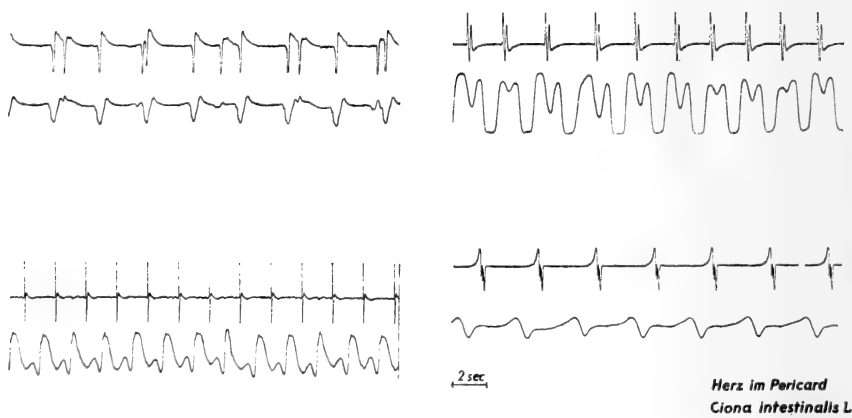
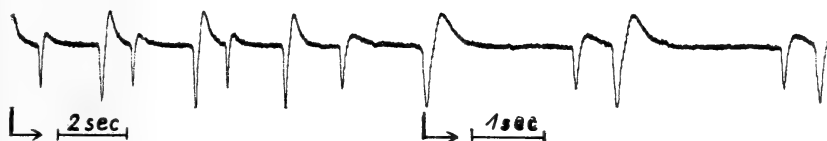
*Aktionsstrom-Formen*

ABB. 3.

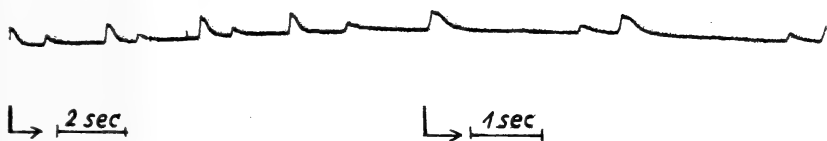
sie als echte Umkehrsystolen manifest werden, zu einer Potentialverstärkung an den Herzenden führen (Abb. 5). Die Extrasystolie ist, wenn sie in Relation mit der Schlagumkehr auftritt, besonders für die mittlere Herzregion typisch. Damit die Reversion zustande kommen kann, scheint die spontane Aktivierung des zentralen

### *Herz Ciona intestinalis · EKG*

#### *a) Wechselstrom verstärkt*



#### *b) Gleichstrom verstärkt*



#### ● *Herz im Pericard* *Ciona intestinalis L*

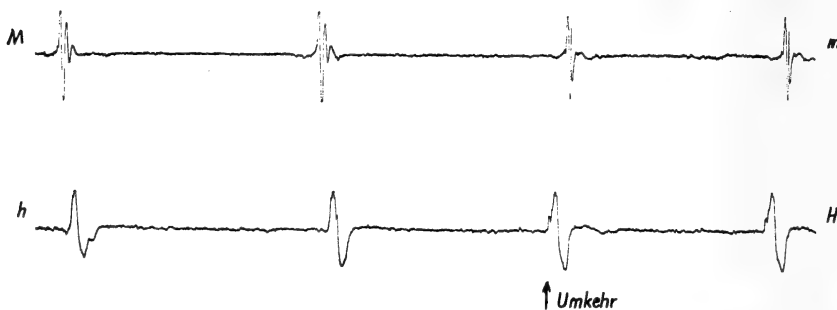
Abb. 4.

Schrittmachergebietes notwendig zu sein. Bei einer spontanen Schlagumkehr wurde an den Herzenden niemals eine Extrasystolie beobachtet, selten in ihrer Nachbarschaft. Sie scheint fast ausschliesslich auf den zentralen Schrittmacherbereich beschränkt zu sein. Bei 57 spontanen Reversionen wurden 40 mit Extrasystolen der mittleren Herzregion registriert, davon 11 mit Pausen, 29 ohne Pausen. Nur zweimal fanden sich Extrasystolen in der Nähe der Herzenden. Ohne nachgewiesene Extrasystolen fanden wir in einem Fall mit Pause und 8 mal ohne Pausen. Hierbei ist zu bedenken, dass wir am ganzen Herzschlauch nur 3 Ableit Elektroden verwendeten, sodass das Nichtauflesen von Extrasystolen noch kein Beweis darstellt für deren vollständiges Fehlen.

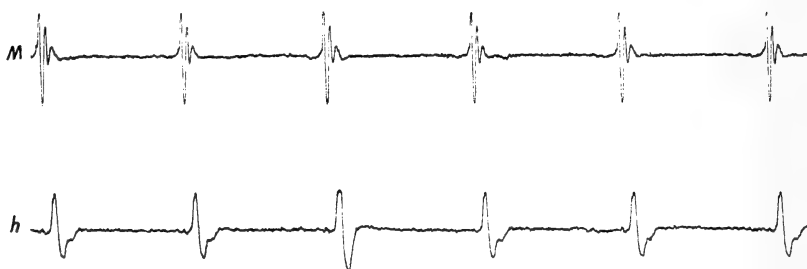
Ein Beispiel für eine elektrische Aktivitätsänderung am passiven Herzende zeigt die Abb. 6. Die Umkehr der Schlagrichtung ist am früheren Einsetzen des Endpotentials zu erkennen, während die Herzmitte eine deutliche Änderung der Potentialform erkennen

### **Änderung des Aktionspotentials am passiven Endzentrum**

#### **a) mit Schlagumkehr**



#### **b) ohne Schlagumkehr**



**Herz im Pericard**  
***Ciona intestinalis* L**

**2 sec**

ABB. 5.

lässt. Eine Extrasystole mit kompensatorischer Pause, wie sie häufig im Zusammenhang mit echten Umkehrsystolen auftritt, zeigt Abb. 5. Kompensatorische Pausen sind aber keinesfalls für den Erfolg der Reversion obligatorisch. Die Tabelle 2 orientiert über die zeitlichen Beziehungen, die zwischen Extrasystole und Schlagumkehr bestehen können, lässt aber keinerlei strenge Gesetz-

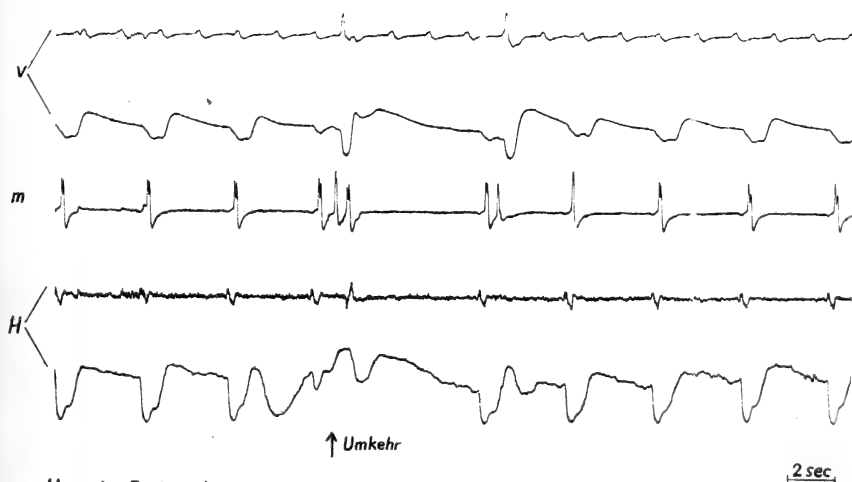
TAB. 2.

*Zeitliche Beziehung zwischen Systole, Extrasystole und kompensatorischer Pause bei Schlagumkehr.*

Zeit zwischen Systole u. Extra- systole (sec)	Zeit zwischen regulären Systolen (sec)	Kompensatorische Pause (sec)
0,8	2,7	ohne Pause
0,6	3,3	» »
0,53	3,1	6,0
0,8	3,1	6,0
0,9	3,4	6,7
1,06	3,2	6,0
0,4	3,7	6,5
0,53	3,06	ohne Pause
1,06	3,7	6,65

*Ciona intestinalis* L.

*Schlagumkehr mit zugeordneter Potentialänderung am ganzen Herzschlauch*



Herz im Pericard  
*Ciona intestinalis* L

ABB. 6.

mässigkeit in den Relationen erkennen. Vorerst müssen wir uns im Wesentlichen auf die Feststellung beschränken, dass die hier nachgewiesene Extrasystolie als echte Automatiestörung zu einer Rhythmusstörung führt und damit zur Reversion des Herzschlages.

Bekanntlich sind in Schrittmachergebieten (Sinus) die Bedingungen zur Entstehung von Extrasystolen besonders einfach. Nomotope Reize können zur Erhöhung der normalen Schrittmacherstärke, d.h. zur Zunahme der Frequenz führen. Wir haben bereits darauf hingewiesen, dass spontane periodische Frequenzänderung für *Ciona intestinalis* typisch ist. Ferner haben wir den „Sinus“ bei *Ciona* als grosses Areal (gesamter Herzschlauch) mit vielen Elementen (Epithelmuskelzellen) erkannt und auch die Tatsache des wandernden Schrittmachers nachgewiesen: andere, frequentere Teile des Herzschlauchs reissen auf Grund der Frequenzerhöhung die Erregungsentstehung an sich. Es ist auch an eine Leitungsunterbrechung zu denken, sodass grössere Komplexe von Epithelmuskelzellen von frequenteren Zonen isoliert werden, andere synchron erregte Zellareale zu einheitlicher Tätigkeit zusammengeschlossen werden. Die Erregungsleitungsgeschwindigkeit im *Ciona*-Herzen messen wir bei 22° C mit 5,9 bis 8,1 mm/sec, was ebenfalls eine günstige Bedingung für eine rasche Zellsynchronisierung darstellt. Zusammen mit diesen und anderen Daten wird man zu einem etwas späteren Zeitpunkt eine neue Theorie der Reversion des Herzschlags bei den Tunikaten versuchen können.

#### KÜNSTLICHE REIZE

##### *Temperatureinfluss auf das EKG.*

Es ist schon lange bekannt, dass man mit Temperaturreizen eine Schlagumkehr bei *Ciona* provozieren kann. Am stillstehenden isolierten Herzen konnten wir mit Kälte- oder Wärmeapplikationen Potentiale hervorrufen, ohne dass dabei ein aktiver Puls ausgelöst wurde. Die Versuche wurden mit lokal aufgesetzten Thermoden ausgeführt. Abb. 7a zeigt, wie mittels Thermode von der Herzmitte aus die beiden Herzentenden elektrisch aktiviert werden können. Die Kontraktionswelle verlief vor Herzstillstand an diesem Herzschlauch abvisceral (V-h), beim reaktivierten Puls in advisceraler Richtung, d.h. von H-v (Abb. 7b). In diesem Falle



## Temperatureinfluß am stillstehenden Herzen

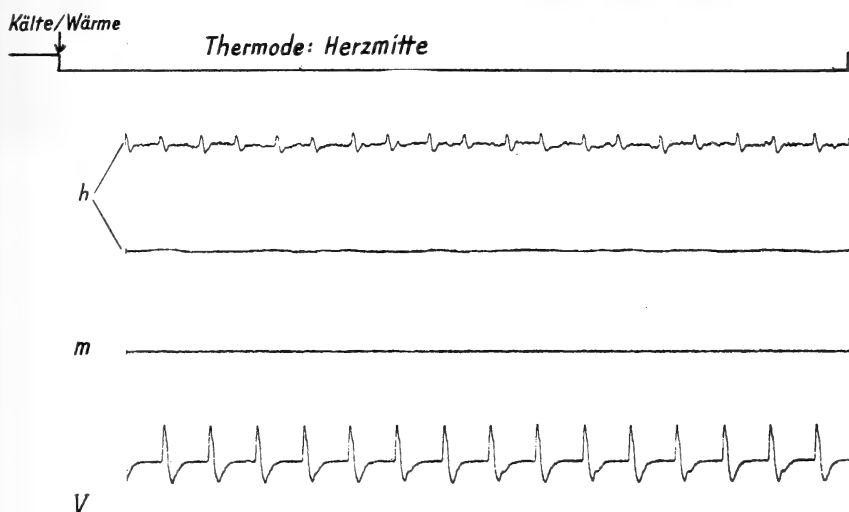


ABB. 7a.

## Temperatureinfluß auf die Herzenden

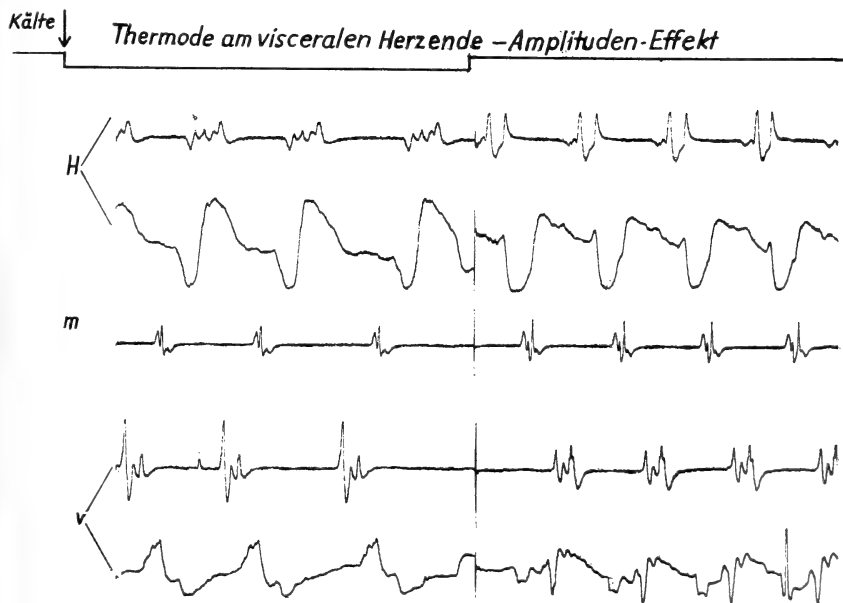


ABB. 7b.

lag die Thermode am passiven Herzende. Kältereiz bewirkt Abnahme des visceralen Aktionspotentials und Verstärkung des hypo-branchialen und ebenfalls des Aktionspotentials der Herzmitte. Die Kontraktionsamplitude hat aber allgemein abgenommen, ohne dass dabei die Frequenz des Pulses herabgesetzt worden wäre.

### ELEKTRISCHE REIZE

Schon früher (1875) haben FOSTER und DEW-SMITH bei kontinuierlicher faradischer Reizung eines Herzendes eine auf das

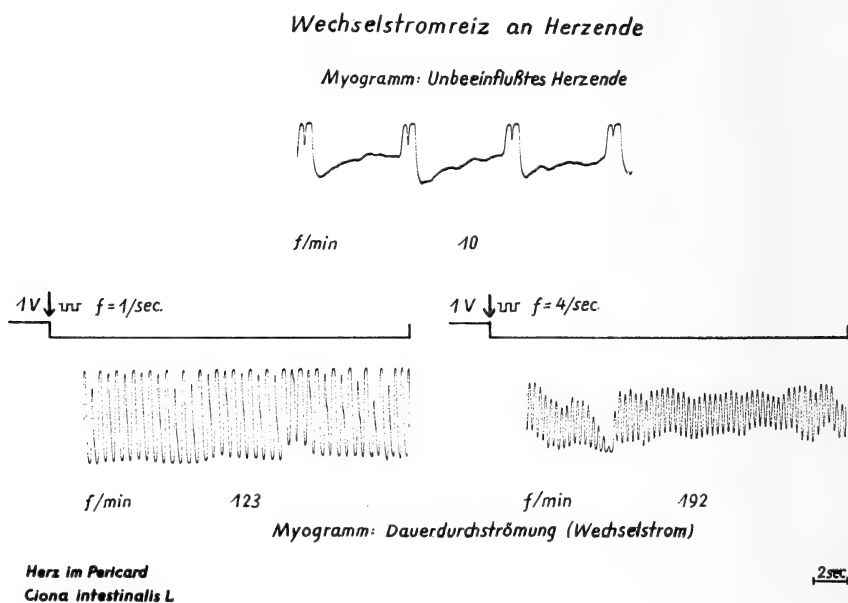


ABB. 8.

gereizte Ende beschränkte erhöhte Pulsaktivität hervorrufen können. Die Erregung hat sich offenbar nicht über eine bestimmte Gruppe von Epithelmuskelzellen hinaus ausgebreitet. Weiter finden wir mit frequenter rhythmischer elektrischer Reizung eine auffallende Erhöhung des Pulstempos, wenn der ganze Herzschlauch durchströmt wurde (Abb. 8). Man erhält bei 1 V Reizspannung und einer Frequenz von 4/sec maximale Herzfrequenzen,

wobei es dann regelmässig zu kurzfristigen Abnahmen der Pulsamplituden kommen kann. Eine eigentliche Ermüdung kommt aber bei Spannungen, die nicht über 1 V liegen, nicht vor. Das Herz von *Ciona* ist nur sehr schwer tetanisierbar und scheint dem Alles-oder-Nichts Gesetz zu gehorchen. Zur Bestimmung der Refraktärzeiten sind noch weitere elektrische Reizversuche notwendig. Die Schlagumkehr ist elektrisch bei Ganzdurchströmung leicht auslösbar. Werden hingegen Reizfrequenzen über 2,5—4/sec bei 0,1—3 V benützt, so erweist sich der Herzschlauch als rasch ermüdbar. Bei galvanischer Reizung ist das nicht mehr reagierende Herz, nach Umpolung, sogleich wieder voll reizbar. Stärkere Frequenz- und Amplitudenunregelmässigkeiten der Kontraktionen treten nur bei einer Reizfrequenz über 3/sec auf. Tabelle 3 vergleicht die Beeinflussung der Pulsfrequenz durch Gleichstrom- und Wechselstromreiz. Tabelle 4 zeigt die Pulsfrequenzänderung bei konstanter Spannung von 0,1 V und variabler Reizfrequenz, Wir finden, dass die Richtung der elektrischen Durchströmung ohne Einfluss ist, die Frequenzabhängigkeit somit in beiden Richtungen die gleiche ist. Die Befunde mit der elektrischen Reizung passen zur Vorstellung der funktionell gleichwertigen Epithelmuskelzellen des ganzen Herzschlauchs.

TAB. 3.

## • Pulsfrequenz nach elektrischem Reiz.

Reiz	Gleichstrom		Wechselstrom	
	Anode hypobr. Frequenz (f/min)	Kathode hypobr. Frequenz (f/min)	Anode hypobr. Frequenz (f/min)	Kathode hypobr. Frequenz (f/min)
0,1	46—46	40—40	48—48	48—48
0,2	42—42			46—46
0,4	40—45		40—42	
1,0	46—45	48—50	42—45	48—48
2,0	58—58	58—58	48—48	48—48
3,0	54—56	56—54	46—48	
4,0	58—56	54—58		
5,0	42—44		42—42	
6,0	44—44	44—36	42—42	42—39

*Ciona intestinalis* L.

TAB. 4.

*Pulsfrequenz bei Wechselstrom von 0,1 V variable Reizfrequenz pro sec.*

Reizfrequenz pro sec	Kathode hypobr. Pulsfrequenz pro min	Anode hypobr. Pulsfrequenz pro min
1,0	59	60
1,5	75	72
1,8	54	66
2,0	49	48

*Ciona intestinalis* L.

#### SCHLUSSFOLGERUNGEN

Der kontraktile Apparat des *Ciona intestinalis* L.-Herzschlauchs besteht aus einschichtigen Epithelmuskelzellen, die offenbar keine desmosomalen Zellverbindungen besitzen (W. SCHULZE). Die Erregungsüberleitung von Zelle zu Zelle dürfte im myofibrillären Bereich der Epithelmuskelzellen liegen. W. SCHULZE findet (laut brieflicher Mitteilung) auf elektronenmikroskopischen Längsschnitten eine lockere Verbindung der Z-Scheiben mit der Zellmembran wahrscheinlich. Das Schrittmachersystem muss in den Epithelmuskelzellen lokalisiert sein, sodass wir bei den Tunikaten von einer Epithelial-Myogenen Herzautomatie zu sprechen haben. Die Tatsache, dass die peristaltischen und antiperistaltischen Kontraktionswellen normalerweise in alternierenden Serien ablaufen hängt nicht von der Wechsel-Dominanz zweier terminaler Hauptschrittmacher ab, sondern ist als Gemeinschaftsleistung des ganzen Herzschlauchs, bestehend aus vielen gleichwertigen potentiellen Schrittmachern zu verstehen. Die Reversionen des Herzschlauchs sind der Erfolg einer echten spontanen extrasystolischen Automatiestörung, vor allem in der zentralen Herzregion. Wie die lokale Synchronisierung, der Epithelmuskelzellen und damit offenbar zusammenhängend die an verschiedenen Orten des Herzschlauchs etablierte Schrittmacher-Dominanz zustande kommt, ist noch nicht klar. Die transitorische Weckung eines terminalen Schrittmachers im Zusammenhang mit der spontanen zentralen Extra-

systolie wird von uns mit anderer Methodik weiter untersucht. Beim gegenwärtigen Stand der Forschung können wir nur feststellen, dass die Reversionen des Herzschlags bei *Ciona intestinalis* ursächlich mit einer extrasystolischen Automatiestörung des ganzen Herzschlauchs verknüpft sind und also nicht das Ergebnis der alternierenden Wirkungsweise von zwei antagonistischen Endzentren.

### ZUSAMMENFASSUNG

Untersuchungen der elektrischen Schrittmacheraktivität am Herzschlauch von *Ciona intestinalis* zeigen bei Synchronableitungen von beiden Herzenden und der zentralen Herzregion der Reversion des Herzschlags vorausgehende spontane Extrasystolie in Herzmitte. Mit Ligatur- und Zerschneidungsexperimenten wird bewiesen, dass die diffuse Automatie über den ganzen Herzschlauch homogen-ubiquitär verteilt ist. (intrazelluläre Myo-epitheliale Automatie).

### SUMMARY

Experimental results on the electrical activity in the pacemaker system of the tunicata-heart (*Ciona intestinalis*) shows by synchronous records of both ends and central heart region a spontaneous extrasystole in the middle part, just before the periodic reversal of the direction of the pulsating wave starts. Ligature and dissection experiments proved, that the diffuse automatism is localised over the whole heart tube homogeniously. The pacemaker is localised in the epithelial muscle cells (intracellular automaticity).

### RÉSUMÉ

Les recherches sur l'activité électrique du système régulateur du cœur (pacemaker) de *Ciona intestinalis* montrent, par des enregistrements synchronisés des deux extrémités de la région centrale du cœur, juste avant la réversion des pulsations, une extrasystolie spontanée au milieu du cœur. Les expériences de ligature et la dissection prouvent que l'automatisme est réparti tout le long du tube d'une façon homogène. Le système régulateur (pacemaker)

est localisé dans les cellules myo-épithéliales (automatisme inter-cellulaire).

## LITERATUR

- KRIJGSMAN, B. J., 1956. *Contractile and pacemaker mechanisms of the heart of tunicates*; Biological Reviews 31: 288-312.
- EBARA, A., 1957. *The Electrocardiogram of the Compound Ascidian, Perophora orientalis* Ärnäck. Science Reports Tokyo Kyoiku Jaigaku. S. B. 8: 126-137.
- KRIJGSMAN, B. J. und KRIJGSMAN, E., 1959. *Investigations into the heart function of Ciona intestinalis (The Action of Acetylcholine and Eserine)*; Arch.intern.Physiol. Biochimie 67: 567-585.
- MISLIN, H., 1964. *Über eine spontane Extrasystolie im Schrittmachersystem des Tunikatenherzens (Ciona intestinalis L.)*; Experientia 20: 227-228.
- SCHULZE, W., 1964. *Zur Ultrastruktur des Herzschlauchs von Ciona intestinalis L.*; Exper. 20: 265-266.

N<sup>o</sup> 34. **E. Ruppli und M. Lüscher.** — Die Elimination überzähliger Ersatzgeschlechtstiere bei der Termiten *Kaloterme flavicollis* (Fabr.)<sup>1</sup> (Vorläufige Mitteilung). (Mit 3 Textabbildungen.)

Abteilung für Zoophysiologie, Zoologisches Institut der Universität Bern.

Entfernt man aus einer Kolonie von *Kaloterme flavicollis* die funktionellen Geschlechtstiere, so entstehen nach kurzer Zeit mehrere Ersatzgeschlechtstiere. Es bleibt jedoch in der Regel nur ein Paar von Ersatzgeschlechtstieren in der Kolonie erhalten, wie schon GRASSI und SANDIAS (1893) festgestellt haben. Die überzähligen Geschlechtstiere werden also eliminiert. BECKER (1948) glaubt, dass sie sich wieder zu Larven zurückbilden können. Dazu müssten sie jedoch eine Häutung durchmachen, und da wir heute wissen, dass die Prothorakaldrüse unmittelbar nach der Ersatzgeschlechtstierhäutung degeneriert (LÜSCHER 1960), müssen wir diese Möglichkeit ausschliessen. BECKER (1948) beobachtete auch,

<sup>1</sup> Durchgeführt mit Hilfe von Forschungskrediten des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

dass manchmal überzählige Geschlechtstiere von anderen Geschlechtstieren umgebracht werden. GRASSÉ und NOIROT (1946) sind der Ansicht, dass die Larven und Nymphen ohne Mitwirkung der Geschlechtstiere für die Elimination verantwortlich sind. LÜSCHER (1952) kommt zur gleichen Ansicht auf Grund von Versuchen, in denen zwei Kolonien durch ein feines Metallgitter getrennt waren und in denen es auf der einen Seite des Gitters zur Elimination aller entstandenen Ersatzgeschlechtstiere kam. Neuerdings betrachten GRASSÉ und NOIROT (1960) die Elimination durch Larven und Nymphen als gesichert: „Nous savons que l'élimination des néoténiques surnuméraires est le fait des autres membres de la société, qui les dévorent, et non le résultat d'un combat entre néoténiques; il s'agit donc d'un phénomène différent de celui qui assure la monogynie des sociétés d'Abeilles domestiques.“

Zur Ermittlung der Faktoren, die zur Elimination führen, haben wir in den letzten Jahren die Gitterversuche von LÜSCHER in verschiedenen Abwandlungen wiederholt. Dabei zeigte es sich, dass die Ergebnisse inbezug auf die Elimination nicht reproduzierbar waren. Eine Elimination erfolgte in unseren neuen Versuchen nur dann vollständig, wenn die Geschlechtstiere ungehindert mit einander in Berührung kommen konnten. Die Geschlechtstiere selbst scheinen also doch irgendwie an der Elimination beteiligt zu sein. Wir haben deshalb weitere Versuche zur Abklärung des Eliminationsgeschehens angestellt.

Zunächst haben wir untersucht, ob die Ersatzgeschlechtstiere sich gegenseitig erkennen müssen, damit es zu einer Elimination kommt. Da für dieses Erkennen wohl nur eine geruchliche Wahrnehmung in Frage kommt, haben wir die Antennen der Ersatzgeschlechtstiere amputiert und den verbleibenden Antennenstumpf mit Lack überzogen. 12 Versuchskolonien von je 30 Larven wurden mit je 2 Paaren antennenloser Ersatzgeschlechtstiere versehen. Die Kolonien wurden einer täglichen Kontrolle unterzogen. Nach 20 Tagen waren noch alle 48 Ersatzgeschlechtstiere vorhanden. Wir haben dann jeder Kolonie ein intaktes Ersatzgeschlechtstier zugesetzt und schon einen Tag später in 7, 2 Tage später in 10 von 12 Kolonien Eliminationen feststellen können. Von den insgesamt 36 überzähligen Ersatzgeschlechtstieren waren 5 Tage nach Zusetzen des intakten Geschlechtstiers 23 eliminiert

und bis zum Abbrechen des Versuches nach weiteren 15 Tagen waren 26 Tiere eliminiert. Die zugesetzten Tiere mit intakten Antennen blieben mit einer Ausnahme erhalten. Sie müssen also für die Elimination verantwortlich gewesen sein. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Abb. 1 dargestellt.

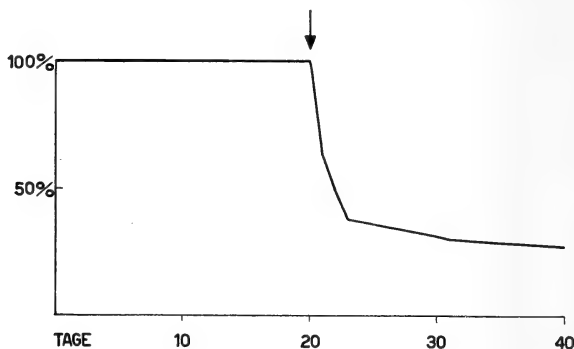


ABB. 1.

Verlauf der Elimination überzähliger antennenloser Ersatzgeschlechtstiere vor und nach dem Zusetzen von intakten Ersatzgeschlechtstieren (Pfeil).

Es war nun sehr naheliegend, anzunehmen, dass das intakte Ersatzgeschlechtstier die anderen angreift. Da aber ein solcher Angriff noch nie beobachtet worden war, mussten Dauerbeobachtungen durchgeführt werden. Dabei zeigte sich, dass tatsächlich Kämpfe zwischen den Ersatzgeschlechtstieren vorkommen, in deren Verlauf es schliesslich zu einer Bissverletzung des einen Tieres kommt. Das verletzte Tier fällt dann, wie dies für verletzte Tiere aller Kasten schon lange bekannt ist, dem Kannibalismus der Larven und Nymphen zum Opfer.

Meist verstreichen viele Stunden, manchmal sogar mehrere Tage, bis es zu den ersten Anzeichen einer Kampfhandlung kommt. Diese äussern sich darin, dass ein Geschlechtstier beginnt, ein anderes intensiv mit den Antennen abzutasten. Wir wollen in der folgenden Beschreibung das erste Geschlechtstier als den Angreifer, das zweite als das Opfer bezeichnen. Wenn dieses Abtasten durch den Angreifer einmal begonnen hat, so tritt es in der Regel bei jeder späteren Begegnung mit dem Opfer wieder auf. Es wird mit der Zeit immer intensiver und der Angreifer versucht, sich dem



Opfer von der Seite her zu nähern. Nach einiger Zeit, manchmal erst nach Stunden, beginnt der Angreifer bei weiteren Begegnungen mit einem Spreizen der Mandibeln und das Opfer wird nun auch mit den Mundteilen berührt. Das Opfer beginnt dann, auf den Angreifer zu reagieren, indem es sich auf seinen Beinen in die Höhe stemmt, seinen Körper nach der Seite des Angreifers hin



Abb. 2.

Kampf von zwei weiblichen Ersatzgeschlechtstieren. Das angegriffene Tier (rechts) wendet dem Angreifer in der typischen Abwehrstellung den nach dorsal eingekrümmten Rücken zu.

etwas neigt und zugleich nach dorsal einkrümmt, sodass es dem Angreifer die glatte Rückenpartie zuwendet (Abb. 2). Der Angreifer versucht nun manchmal, durch blitzschnelles Vorstossen und Zubeissen das Opfer zu packen (Abb. 3). Diese Beissbewegungen sind meist gegen die Flanken des Hinterleibs oder des Prothorax gerichtet. Solange das Opfer die oben geschilderte Abwehrstellung einnimmt, wird es dabei nicht verletzt. Es entzieht sich dem Biss des Angreifers auch oft dadurch, dass es sich vorwärts bewegt

und mit dem Hinterleib gleichzeitig zur Seite weicht. Der Angreifer folgt dieser Bewegung, sodass sich beide Tiere im Kreis herum bewegen. Es kommt auch vor, dass das Opfer auf eine Beissbewegung des Angreifers hin sehr rasch flieht und vom Angreifer verfolgt wird, wobei sich die Tiere meist bald verlieren. Bei der nächsten Begegnung erfolgen aber von neuem Angriffe. Schliesslich

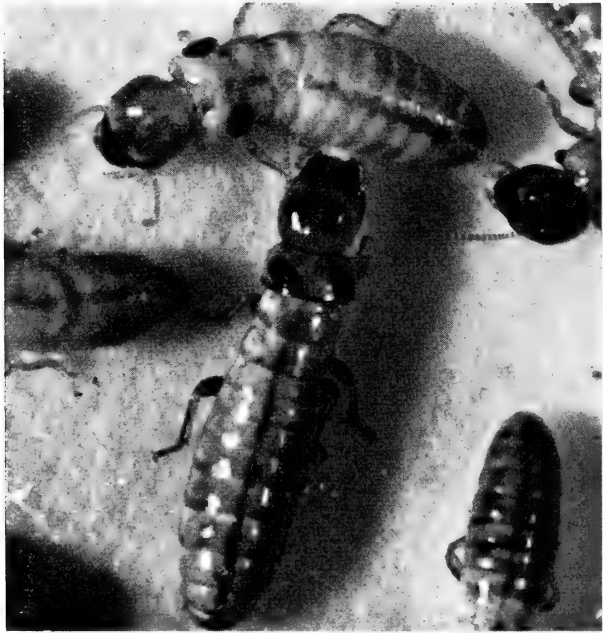


Abb. 3.

Das angreifende Weibchen (unten) stösst mit gespreizten Mandibeln gegen die Flanke des anderen weiblichen Ersatzgeschlechtstiers.

kann es dem Angreifer einmal gelingen, das Opfer mit den Mandibeln zu packen. Er bleibt dann während einiger Sekunden in das Opfer verbissen. Dieses versucht nun, rasch zu flüchten oder zurückzubeissen, was ihm nur in ganz seltenen Fällen gelingt. Nach dem erfolgreichen Biss löst sich der Angreifer los und entfernt sich langsam, während das Opfer meist ruhig stehen bleibt. Nun kann man bei ihm oft das Austreten von Hämolymphe an der Bissstelle beobachten. Nach kurzer Zeit beobachtet man, dass sich die Larven und Nymphen um das Opfer scharen und an der Biss-

stelle zu fressen beginnen, ohne dass sich das Opfer dagegen wehrt. Innert weniger Minuten kann das Opfer vollständig aufgefressen werden. An diesem Kannibalismus beteiligen sich die Ersatzgeschlechtstiere nur selten, doch konnte beobachtet werden, dass ausser Larven und Nymphen auch Soldaten sich daran beteiligen, indem sie die austretende Hämolymphe auflecken.

Bezeichnend für das Kampfverhalten ist, dass der Angreifer während der ganzen Kampfphase, die mehrere Stunden oder sogar Tage dauern kann, in der Regel nur das gleiche Tier angreift und nicht auf andere Ersatzgeschlechtstiere reagiert. Man kann deshalb annehmen, dass der Angreifer nicht allgemein auf den Geruch von anderen Ersatzgeschlechtstieren reagiert, sondern dass er zu Beginn der Angriffsphase auf den Individualgeruch des Opfers geprägt wird. Bezeichnend für das Opfer ist es, dass es sich bis zuletzt nicht aktiv am Kampfe beteiligt, sondern sich durch Abwehrstellung und Flucht dem Angriff entzieht. Erst nach erfolgtem Biss versucht es manchmal, zurückzubeissen, was dann in seltenen Fällen zu einer Elimination beider Tiere führen kann.

Unsere Dauerbeobachtungen haben gezeigt, dass für die Elimination primär nicht die Larven und Nymphen verantwortlich sind, sondern die Ersatzgeschlechtstiere selbst. Erst wenn ein Ersatzgeschlechtstier durch ein anderes Geschlechtstier verletzt worden ist, wird es von den Larven und Nymphen aufgefressen.

#### SUMMARY

Elimination of supernumerary replacement reproductives has been studied in the termite *Kaloterme flavicollis*. It is initiated by fighting between reproductives. When one reproductive is injured it is abandoned by its aggressor and becomes a victim of the cannibalism by larvae and nymphs.

#### RÉSUMÉ

L'élimination des sexués de remplacement surnuméraires a été observée chez le Termite *Kaloterme flavicollis*. Elle est déclenchée par des luttes entre ces sexués. Dès que l'un d'eux est blessé, il est abandonné à son sort par l'agresseur et devient la victime du cannibalisme des larves et des nymphes.

## LITERATURVERZEICHNIS

- BECKER, G., 1948. *Über Kastenbildung und Umwelteinfluss bei Termiten*. Biol. Zbl. 67: 407-444.
- GRASSÉ, P. P., und NOIROT, Ch., 1946. *La production des sexués néoténiques chez le Termite à cou jaune (Calotermes flavicollis): inhibition germinale et inhibition somatique*. C. R. Acad. Sci. 223: 869-871.
- und NOIROT, Ch., 1960. *Rôle respectif des mâles et des femelles dans la formation des sexués néoténiques chez Calotermes flavicollis*. Insectes sociaux 7: 109-123.
- GRASSI, B., und SANDIAS, A., 1893. *Costituzione e sviluppo della società dei Termitidi*. Atti Accad. Gioenia, Catania 6/7: 1-150.
- LÜSCHER, M., 1952. *Die Produktion und Elimination von Ersatzgeschlechtstieren bei der Termite Kalotermes flavicollis Fabr.* Z. vergl. Physiol. 34: 123-141.
- 1960. *Hormonal control of caste differentiation in termites*. Ann. N.Y. Acad. Sci. 89: 549-563.

---

N<sup>o</sup> 35. **F. Schneider**, Wädenswil. — Die Beeinflussung der ultraoptischen Orientierung des Maikäfers durch Veränderung des lokalen Massenverteilungsmusters. (Mit 5 Textabbildungen.)

Eidg. Versuchsanstalt Wädenswil (Zürich).

## 1. EINLEITUNG

Die Richtungswahl des Maikäfers (*Melolontha vulgaris* F.) gegenüber elektrischen und magnetischen Feldern ist veränderlich. Diese zeitweise systematischen Variationen trotz Abschirmung der ganzen Versuchsanlage mit einem Faradaykäfig und die Beobachtung, dass bereits geringe azimutale Drehungen künstlicher magnetischer Felder ultraoptische Orientierungsmuster tiefgreifend verändern können (5), führten neben Ergebnissen von Flugversuchen (3) zur Annahme, die Tiere würden ausser elektrostatischen und magnetostatischen Feldern noch andere ultraoptische Systeme wahrnehmen. Solche noch nicht identifizierte, teilweise variable Bezugssysteme wurden „Melofelder“ genannt

und es wurde die Vermutung geäussert, der Maikäfer verfüge über eine Art „Gravitationsauge“, mit dem er Veränderungen im lokalen Massenverteilungsmuster und die relativen Richtungsänderungen von Mond und Sonne direkt wahrnehmen könne (4, 5).

Die richtungsvariablen Gravitationsfelder von Mond und Sonne lassen sich experimentell nicht eliminieren. Dagegen können wir das lokale Massenverteilungsmuster leicht verändern, indem wir neben den Versuchsschalen schwere Bleiklötze aufstellen. Schon Vorversuche vom Januar bis Februar 1961 lieferten positive Ergebnisse, doch beschränken wir uns im Folgenden auf eine Versuchsreihe des Jahres 1963, weil sie in einer neuen vergrösserten Versuchsanlage gewonnen wurde und sich deshalb statistisch besser auswerten lässt.

Grossen Dank schulde ich wiederum Herrn Prof. Dr. H. L. Le Roy (Eidg. Techn. Hochschule Zürich) für seine statistische Auswertung der wichtigsten Versuchsergebnisse. Seine Befunde sind den einzelnen Versuchen im Wortlaut beigelegt. Herrn Prof. Dr. F. GASSMANN, Direktor des Instituts für Geophysik der E. T. H. in Zürich verdanke ich wertvolle Angaben über die Stärke von Gravitationsfeldern.

## 2. VERSUCHSTECHNIK UND AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

Was die Versuchstechnik anbetrifft, verweise ich auf frühere ausführliche Beschreibungen (5). In der neuen vergrösserten Anlage ist lediglich auf eine Abschirmung mit einem Faradaykäfig verzichtet worden. Die Aussenmauern des unterirdischen Versuchsraums sind etwa 1,3 bis 2 Meter dick, die zwei kleinen hochliegenden Fenster sind mit 4 cm dicken Eternitplatten abgedichtet. Temperatur konstant 20° C, gedämpfte ausgeglichene Beleuchtung. Von den 24, regelmässig im Raum verteilten Versuchsschalen wurden zwecks Erhöhung der gegenseitigen Abstände nur 12 benützt. Die Schalen waren nach folgendem Schema in drei Reihen angeordnet (Schalen- und Reihenabstände 100—112 cm):

2	4	6	8
15	13	11	9
18	20	22	24

Neben 6 Glasdoppelschalen in lichtdichtem Behälter wurde je ein etwa 40 kg schwerer Bleiklotz mit Kupfergriff gestellt. Die Klötze sind etwa 12 cm hoch, die Grundfläche misst 18×18 cm; an einer Ecke befindet sich eine vertikale Aussparung mit dem Grundriss eines Viertelkreises, um die Bleimasse möglichst nahe an

den Behälter heranrücken zu können. Die vertikale Symmetrieebene des Bleiklotzes wird genau nach Richtung 4 eingestellt (azimutaler Richtungskreis mit 64 Teilstrichen, O = Norden), so dass im Mittelpunkt der Schale das Massemaximum des Bleiklotzes genau in dieser Himmelsrichtung liegt. Der Schwerpunkt der Bleimasse ist etwa 16 cm von der Schalenmitte entfernt.

Um dem Einwand zu begegnen, die Käfer könnten sich im Moment der nur wenige Sekunden dauernden Versuchskontrollen optisch nach den Bleiklötzen orientieren, wurden neben die 6 bleilosen Versuchsschalen Kartonattrappen von genau gleicher Form und Grösse gestellt. Bleiklötze und Kartonmodelle waren zudem mit dichtem weissem Stoff überzogen. Um ferner bei der Verteilung der Bleiklötze und Kartonattrappen jede Willkür auszuschliessen, bestimmte ich vor jedem Versuch die entsprechenden Schalennummern anhand einer Tabelle mit Reihen zufälliger Zahlen. Auf künstliche elektrische und magnetische Felder ist in dieser Versuchsreihe verzichtet worden.

Bei der Wahl der Versuchstage bevorzugte ich bestimmte Mondphasen. In Anbetracht der extremen geographisch-ultraoptischen Orientierung im Versuch 13 d (5) bei abnehmendem Halbmond, setzte ich den ersten Versuch auf den 10. September 1963 fest. Mit diesem und ähnlichen erfolgreichen Versuchen ist selbstverständlich noch nicht bewiesen, dass nicht auch an andern Tagen brauchbare Ergebnisse erzielt worden wären.

Die Auswertung der Versuchsergebnisse wird sehr erleichtert, wenn die von den einzelnen Käfern gewählten Richtungen in Punktdiagramme eingetragen werden (Ordinate: Himmelsrichtung der Körperachse, Abszisse: Zeit). Man beschränkt sich in diesen Diagrammen auf den Halbkreis 1—32 und betrachtet entsprechend den Regeln der ultraoptischen Orientierung Richtungen, welche  $180^\circ$  voneinander abweichen, als gleichwertig. Die u.o. Orientierung äussert sich in einer Bevorzugung bestimmter Sektoren des Richtungskreises. Gleichzeitig bevorzugte Sektoren sind oft gegenständig, oder stehen senkrecht aufeinander. Meistens drehen sie sich während vieler Stunden gleichförmig nach rechts oder links. Derartige systematische Variationen in der u.o. Orientierung treten in den Punktdiagrammen in Form eigentümlicher streifenartiger Punktanordnungen in Erscheinung. Die relativ dicht mit Punkten besetzten Streifen sind oft nicht nur parallel und gleich

breit, sondern setzen kontinuierlich über die Nordsüdachse hinweg. Überzufällige Orientierungsmuster sind nun sehr empfindliche Indikatoren für den Nachweis zusätzlicher experimenteller ultra-optischer Einflüsse. Wenn es gelingt, mit Bleiklötzen solche Streifenmuster zu erzeugen, zu verändern oder auszulöschen, ist bewiesen, dass die Käfer eine von diesen Bleimassen ausgehende u.o. Information empfangen haben. Wie in früheren Versuchen sind auch hier Änderungen im Orientierungsverhalten nicht selten mit Änderungen in der Aktivität gekoppelt (durchschnittliche Zahl der Ruhestellungen pro Stunde). Wo nichts Gegenteiliges vermerkt ist, sind sämtliche Einzelergebnisse verwertet worden.

### 3. BESCHREIBUNG DER EINZELNEN VERSUCHE

*Versuch 17*<sup>1</sup>. 10.—11. September 1963, 6.40—1.40 Uhr; Wetter: anfänglich Hochnebel später hell; abnehmender Halbmond am 10. September 12.43 Uhr. Käfer am 3. April 1963 bei Mels (St. Gallen) ausgegraben, dann bei 1° C aufbewahrt, noch nie in einem Versuch verwendet; anfänglich nur männliche Tiere, ab 19.20 Uhr nur weibliche. Bleiklötze neben den Schalen 2, 8, 13, 15, 20, 22; Kartonattrappen neben den Schalen 4, 6, 9, 11, 18, 24.

Aus Abbildung 1 ist ersichtlich, in welcher Himmelsrichtung sich die Käfer in der Kartonserie (a) und in der Bleiserie (b) zur Ruhe gesetzt haben. Der Unterschied der beiden Orientierungsmuster ist sehr eindeutig. In der Bleiserie lassen sich 30 Punkte zwei parallelen, gleichbreiten und einem senkrecht darauf stehenden Streifen zuordnen. Nur 4 Punkte liegen ausserhalb dieser stark besetzten Zonen; doch scheinen 3 von ihnen ebenfalls dem allgemeinen Orientierungsschema zu folgen, indem sie längs einer Geraden angeordnet sind, welche die gleiche Richtung aufweist wie die zwei parallelen Streifen und von beiden gleich weit entfernt ist.

Die stark besetzten Streifen entsprechen Vorzugssektoren von 12 bzw. 9 Teilstrichen Öffnung, welche sich gleichförmig im Sinne des Uhrzeigers bzw. gegen den Uhrzeiger drehen. Die zwei nach rechts drehenden Sektoren benötigen für eine Wendung von 180° etwa 7 Stunden 30 Minuten, der nach links drehende Sektor genau doppelt so lange, nämlich 15 Stunden. Die Anordnung der Punkte

<sup>1</sup> Versuche 9-16 siehe Literaturzitat 5.

liegt weit ausserhalb einer zufälligen Verteilung und ist sehr charakteristisch für ein ultraoptisches Orientierungsverhalten. In der Kartonserie (a) ist keine derartige Ordnung zu erkennen. In den „stark besetzten“ Streifen liegen 22 Punkte, in den etwa doppelt so grossen Restflächen 31. Zu beachten ist ferner, dass nicht nur die Anordnung, sondern auch die Gesamtzahl der Punkte zwischen den beiden Serien stark differiert; bei Karton 53, bei Blei nur 34. Dies bedeutet, dass die Bleiklötze neben den geschlossenen Glashalen und lichtdichten äusseren Behältern hier nicht nur eine straffe ultraoptische Orientierung begünstigt, sondern auch die Unruhe der Käfer merklich erhöht haben! Ein grosser Teil der Käfer musste ersetzt werden, ohne während des zweistündigen Schalenaufenthaltes ein Ergebnis geliefert zu haben.

#### *Statistischer Kommentar zu Abbildung 1:*

„Die in Abbildung 1 eingezeichneten Parallelfelder wurden in ähnlicher Anordnung bereits in früheren Versuchen festgestellt, so dass die Feldunterteilung in diesem Versuch nicht als rein willkürlich betrachtet werden darf. — Wird vorausgesetzt, dass nur der Zufall die Punkteverteilung bedingt, so ist die in Abbildung 1b beobachtete Punkteverteilung (oder eine noch einseitigere Punkteanordnung) nur mit einer Wahrscheinlichkeit zu erwarten, die kleiner ist als  $10^{-9}$ . Es ist daher auf eine systematische Punkteverteilung zu schliessen. In Abbildung 1a ist die beobachtete Punkteverteilung, unter der Voraussetzung der Wirkung rein zufälliger Einflüsse, mit einer Wahrscheinlichkeit  $P$  von der Grössenordnung 0.31 zu erwarten. Es kann somit nicht mehr von der in Abbildung 1b festgestellten systematischen Orientierung gesprochen werden. Es ist anzunehmen, dass die Bleiklötze die systematische Orientierung der Käfer begünstigten.“

*Versuch 18.* 17.—18. September 1963, 5.20—4.00 Uhr; Wetter: leicht bewölkt bis hell; Neumond am 17. September 21.51 Uhr. Käfer am 3. April 1963 bei Mels (St. Gallen) ausgegraben, noch nie in einem Versuch verwendet, nur weibliche Tiere. Bleiklötze neben den Schalen 2, 4, 6, 18, 20, 24; Kartonattrappen neben den Schalen 8, 9, 11, 13, 15, 22.

Während in der Kartonserie (Abbildung 2a) weder Streifen noch andere auffällige Muster zu beobachten sind, lässt sich in der Blei-



serie (b) ein unregelmässiges und fragmentarisches Streifenmuster erkennen. Am auffälligsten sind wohl die schmalen, isolierten, dicht besetzten Streifenfragmente nach dem Mittag und nach Mitter-

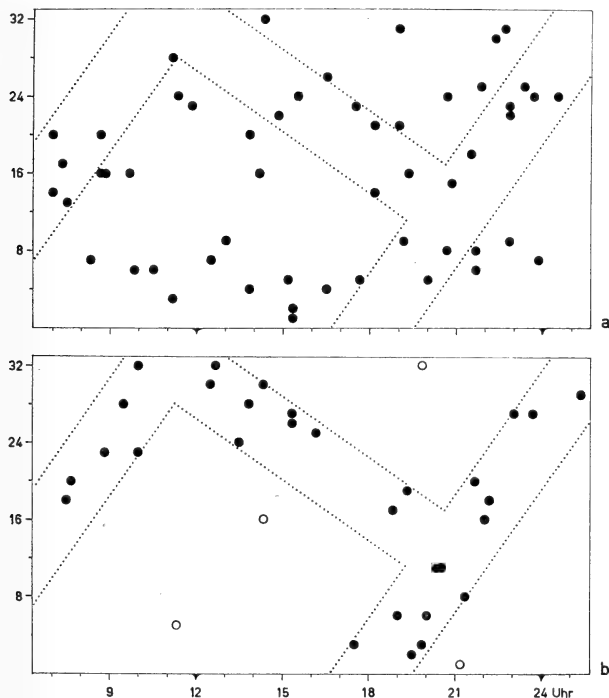


ABB. 1.

*Beweis einer Beeinflussung der ultraoptischen Orientierung der Maikäfer durch Bleiklötze; a) Richtungswahl neben Kartonattrappen: grosse Streuung der Punkte, relativ rasche Beruhigung der Käfer; b) Richtungswahl neben Bleiklötzen: Bildung eines charakteristischen Streifenmusters; die Käfer bevorzugten zwei gegenständige Sektoren des Richtungskreises, welche sich anfänglich im Sinne des Uhrzeigers, dann in der Gegenrichtung und schliesslich wieder im Uhrzeigersinn gleichförmig drehen; erhöhte Unruhe gegenüber der Kartonserie. Abszisse: Zeit; Ordinate: Himmelsrichtung, O = Norden; alle Werte sind auf den Halbkreis 1—32 transponiert worden (Versuch 17).*

nacht. Sie erscheinen nicht nur mit etwa 12 Stunden Abstand, sondern zeigen den gleichen Drehsinn mit dem Uhrzeiger, wobei die Drehung dieser schmalen Vorzugssektoren nachts bedeutend rascher verläuft als am Nachmittag. In der Kartonserie fehlen diese Punktreihen vollständig. Abgesehen von einer sehr diffusen, mit dem schräg nach unten laufenden, langen Balken angedeuteten

Punkteverdichtung besteht im Übrigen auch in der Bleiserie eine beträchtliche Streuung. Die Aktivität ist in beiden Serien ähnlich, bei Blei kommt es zu 50, bei Karton zu 48 Ruhestellungen.

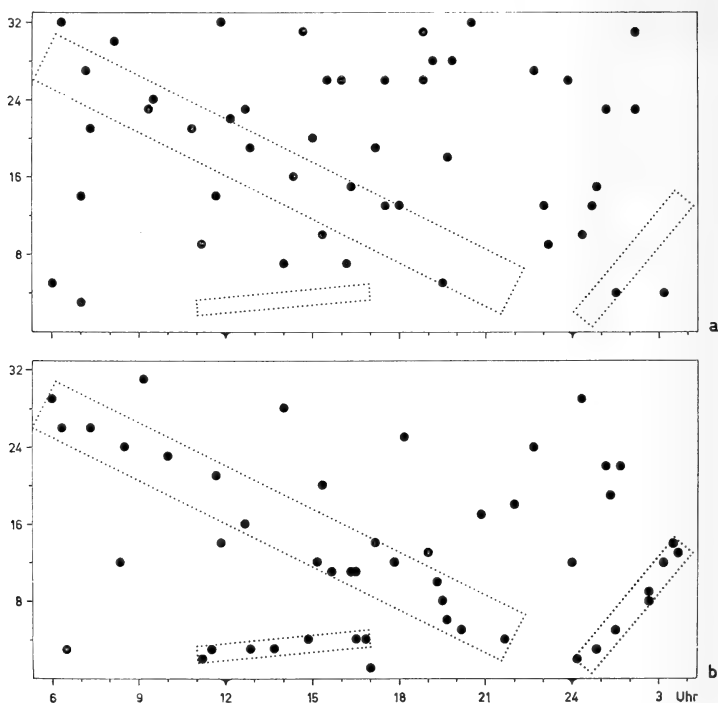


ABB. 2.

*Unterschiedliche Orientierungsmuster in der Karton- und Bleiserie; Bei Blei (b) treten nach 12 und 24 Uhr dicht besetzte, kurze, schmale Streifen auf, welche in der Kartonserie (a) fehlen (Versuch 18).*

*Statistischer Kommentar zu Abbildung 2:*

„Für diese Beobachtungen konnte vorderhand nur ein einfacher Test berücksichtigt werden. Beim Vorliegen weiterer Erkenntnisse wird jedoch ein schärferer Test in Anwendung kommen können, womit dann eine bedeutend bessere (objektive) und zugleich eine schärfere statistische Absicherung möglich wird. Die Anordnung der Punkte in Abbildung 2a weist Zufallscharakter auf, da bei rein zufälligem Geschehen die beobachtete oder eine extremere Verteilung mit einer Wahrscheinlichkeit  $P$  von  $0.5 < P < 0.7$  zu erwarten

ist. In Abbildung 2b kann eine Punkteverteilung, wie sie beobachtet wurde (oder eine noch systematischere Verteilung), nur mit einer Wahrscheinlichkeit  $P$  zwischen 0.05 bis 0.02 erwartet werden. Auch hier ist somit eine verbesserte Orientierung in der Bleiserie (b) festzustellen.“

*Versuch 19.* 25.—26. September 1963, 7.20—3.00 Uhr; Wetter: bedeckt, regnerisch, später etwas aufhellend; zunehmender Halbmond am 26. September 1.39 Uhr. Käfer am 3. April 1963 bei Mels (St. Gallen) ausgegraben, noch nie in einem Versuch verwendet, nur weibliche Tiere. Bleiklötze neben den Schalen 2, 4, 8, 9, 13, 20; Kartonattrappen neben den Schalen 6, 11, 15, 18, 22, 24.

Zur vergleichswisen Analyse des Orientierungsverhaltens in den beiden Serien (Abbildung 3) erscheint es sinnvoll, die ganze Versuchszeit in folgende drei Phasen zu unterteilen: 7.20—14.30 Uhr, 14.40—19.50 Uhr, 19.50—3.00 Uhr. Während der ersten Phase lassen sich in der Kartonserie (a) 14 von 15 Punkten in schmalen Streifen unterbringen, welche alle Regeln der ultra-optischen Orientierung erfüllen. Die Streifen sind nicht nur alle gleich breit und parallel, sondern genau um  $90^\circ$  gegeneinander verschoben und so gelagert, dass der unten bei 0 (= 32) aus dem Diagramm tretende Streifen im gleichen Moment oben bei 32 (= 0) wieder eintritt. Die Streifen entsprechen einem bevorzugten rechtwinkligen Achsenkreuz, welches gleichförmig gegen den Uhrzeiger dreht und ohne Störung über die Nordsüd-Achse hinwegsetzt. Die stark besetzten Streifen sind genau halb so breit wie die schwach besetzten. Bei gleichmässiger Punktverteilung kämen von den 15 Punkten 5 in die schmalen und 10 in die breiten Streifen zu liegen, statt 14 bzw. 1 im Diagramm. Bei b fehlt eine solche Ordnung. In den schmalen Streifen liegen 5 Punkte, in den breiten 10. 1 Punkt liegt auf einer Trenngeraden, was einer idealen gleichmässigen Verteilung entspricht.

In der zweiten Phase sind weder bei a noch bei b die Punkte zufällig verteilt. Bei a finden wir im Winkelbereich von 1—16 nur 1 Punkt, von 17—32 jedoch 14. In der Bleiserie b lautet die entsprechende Punktbesetzung 5 und 2, die Werte scharen sich um die beiden senkrecht aufeinander stehenden Diagonalachsen  $8/40$  und  $24/56$  und die Gesamtzahl der Ruhestellungen ist stark herabgesetzt (die Käfer sind unruhiger). In der dritten Phase lassen sich

bei a und b die meisten Punkte Streifen zuordnen, welche schräg aufwärts verlaufen. Die Streifenmuster der beiden Serien scheinen nicht genau übereinzustimmen. Bemerkenswert ist, dass der im

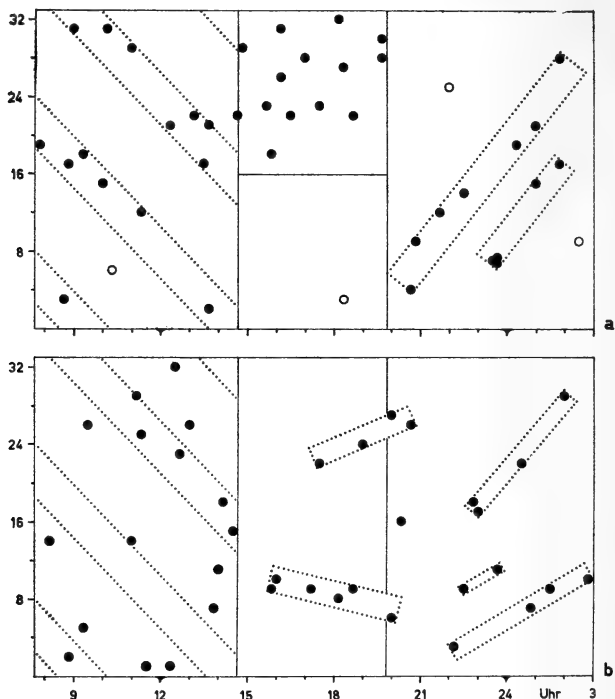


ABB. 3.

*Spontane gleichzeitige Umstellung im Orientierungsverhalten in der Karton- und Bleiserie.* In der ersten Phase lassen sich in der Kartonserie (a) die meisten Punkte schmalen Streifen zuordnen, welche einem bevorzugten Achsenkreuz entsprechen, das sich gleichförmig gegen den Uhrzeiger dreht; in der Bleiserie (b) fehlt eine solche Ordnung. In der zweiten Phase liegen bei a die meisten Punkte in der Zone 16-32, bei b konzentrieren sie sich um 9 und 23. In der dritten Phase bilden sich Streifenfragmente, welche eine Drehung von Vorzugssektoren im Uhrzeigersinn andeuten (Versuch 19).

ganzen Versuch zweimalige Wechsel im Orientierungsverhalten in beiden Serien zeitlich ungefähr zusammenfällt.

#### *Statistischer Kommentar zu Abbildung 3:*

„Für die erste Hälfte der Beobachtungszeit (7.45—17.15 Uhr) resultieren in Abbildung 3a und b ungleiche Punkteverteilungen

(unterschiedliche Orientierung der Käfer). Diese Aussage ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 0.005 behaftet. Auch hier wird vertiefte Erkenntnis über die Orientierung der Käfer zu einem strengeren statistischen Test führen. Die Beobachtungsperiode von 17.45—3.00 Uhr zeitigt in Abbildung 3a und b analoge Punkteverteilungen, so dass hier kein systematischer Unterschied vorliegt. Es wurde auch hier ein einfacher Test benützt, der zu wenig streng ist und daher zu Aussagen führt, die eher zu Gunsten des Zufalls entscheiden.“

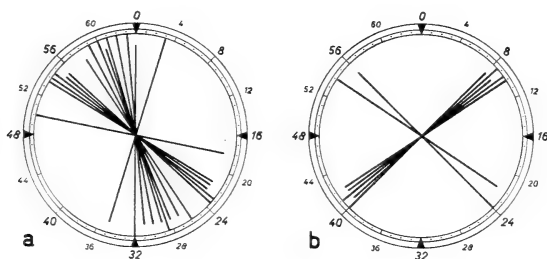


ABB. 4.

*Unterschiedliche Richtungswahl neben Kartonattrappen (a) und Bleiklötzen (b).* Phase 2 von Abbildung 3 in Kreisdiagrammen dargestellt; O = Norden; jeder Strahl entspricht der Körperachse eines Käfers, welcher sich zur Ruhe gesetzt hat; Kopfseite dort, wo der Strahl den Richtungskreis berührt; charakteristische ultraoptische Orientierungsmuster (Versuch 19).

Schliesslich können wir die Phase 2 für Karton- und Bleiserie in Form von Kreisdiagrammen darstellen (Abbildung 4). In der Kartonserie (a) werden zwei einander gegenüberliegende Viertelkreissektoren eindeutig bevorzugt, die um  $90^\circ$  davon abweichenden jedoch vollständig gemieden. In der Bleiserie (b) bildet sich mitten in dem bei a gemiedenen Bereich ein dichtes Strahlenbündel um die Achse 9/41 und die restlichen zwei Strahlen stehen ungefähr senkrecht darauf. Die überzufällige und unterschiedliche Richtungswahl in den beiden Versuchsreihen wird damit recht auffällig.

#### *Statistischer Kommentar zu Abbildung 4:*

„Die Käferorientierung ist in Abbildung 4a und b unterschiedlich. Diese Aussage ist mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit (P) behaftet, die zwischen 0.01 und 0.02 liegt.“

*Versuch 20.* 3. Oktober 1963, 7.30—22.30 Uhr; Wetter: bedeckt, regnerisch; Vollmond am 3. Oktober 5.44 Uhr. Käfer am 5. April 1963 bei Mels (St. Gallen) ausgegraben, noch nie in einem Versuch verwendet, nur weibliche Tiere. Bleiklötze neben den Schalen 6, 8, 9, 13, 15, 22; Kartonattrappen neben den Schalen 2, 4, 11, 18, 20, 24.

Die Ergebnisse sind in Abbildung 5 dargestellt. Die Streuung ist in beiden Serien beträchtlich, doch lassen sich in der Karton-

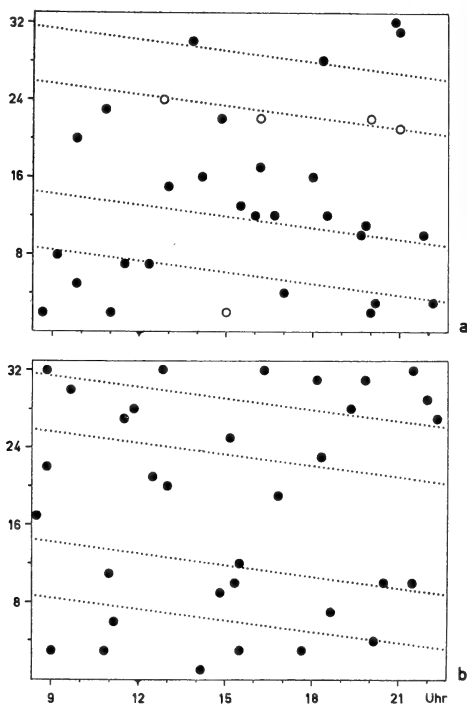


ABB. 5.

*Auftreten von Sperrzonen in der Kartonserie (a).* Entsprechend den Regeln der ultraoptischen Orientierung sind die praktisch punktfreien Streifen parallel, gleich breit und etwa  $90^\circ$  (16 Teilstriche) gegeneinander verschoben; weisse Punkte: Ergebnisse von Schale 24 (siehe Text). In der Bleiserie (b) ist keine solche Ordnung zu erkennen (Versuch 20).

serie (a) zwei gemiedene Streifen erkennen, welche die Regeln der ultraoptischen Orientierung erfüllen; sie sind gleich breit, parallel und gegeneinander um etwa  $90^\circ$  verschoben. Die schwach besetzten Streifen sind halb so breit wie die stark besetzten, die entsprechenden Punktzahlen weichen stark von einer gleichmässigen

Verteilung ab, sie betragen 1 bzw. 30 (2 Punkte liegen auf Trenngeraden). In der Bleiserie (b) ist keine solche Ordnung zu erkennen, die entsprechenden Punktbesetzungen lauten 9 bzw. 23 (1 Wert auf einer Trenngeraden).

Bemerkenswert ist noch der Befund, dass der einzige Wert in den Sperrzonen von a und drei weitere periphere Punkte, welche verhindern, die unbesetzten Streifen derart abzugrenzen, dass sie genau  $90^\circ$  gegeneinander verschoben sind, der Schale 24 entstammen (alle Werte dieser Schale als weisse Kreise hervorgehoben). Diese Schale nimmt in der ganzen Versuchsanlage insofern eine Sonderstellung ein, als sie in 65 cm Entfernung von einer massiven quadratischen Steinsäule von 50 cm Breite liegt. Es ist wohl nicht abwegig anzunehmen, dass diese Steinmasse wie ein Bleiklotz (wenn auch viel schwächer) die ultraoptische Orientierung beeinflusst, besonders wenn diese Wirkung nicht durch Blei neben der Schale verwischt wird.

#### *Statistischer Kommentar zu Abbildung 5:*

„Wird die eingezeichnete Zoneneinteilung als Beurteilungsbasis benutzt, so ist die Punkteverteilung in Abbildung 5b als zufällig zu erklären ( $P = 0.46$ ), in Abbildung 5a dagegen muss auf eine systematische Punkteanordnung geschlossen werden, da das beobachtete oder ein noch einseitigeres Verhältnis unter der Voraussetzung der Nullhypothese (Wirkung des Zufalls) nur mit einer Wahrscheinlichkeit  $P$  kleiner als 0.0004 zu erwarten ist.“

Die ganze, in sich geschlossene Versuchsreihe, in welcher die ultraoptische Orientierung der Maikäfer neben Bleiklötzen und Kartonattrappen vergleichsweise geprüft worden ist, umfasst sieben Versuche. Vier davon sind in Diagrammen dargestellt und statistisch ausgewertet worden. Bei der Besprechung der restlichen drei Versuche können wir uns kurz fassen. Ein Versuch am 19. September (2 Tage nach Neumond) dauerte nur etwa 13 Stunden von 9.00—21.50 Uhr. Während 3 Stunden, von 12.10—15.20 Uhr, lieferte die Kartonserie überhaupt kein Ergebnis, die Bleiserie von 9.00—15.20 Uhr nur 6 Werte. Damit werden die Diagramme sehr lückenhaft und für eine vergleichsweise Auswertung ungeeignet. Die Tiere haben sich jedoch zweifellos in beiden Serien ultraoptisch orientiert, weil sich sehr oft mehrere Punkte zu dichten

Gruppen zusammenschliessen (Koinzidenz Richtung/Zeit). Mit einem kurzen Versuch am 26. September 13.50—24.00 Uhr. (mehr als 12 Stunden nach zunehmendem Halbmond) wollte ich prüfen, ob sich das sehr charakteristische Orientierungsmuster vom Vortag (Versuch 19) etwa um 18 Uhr reproduzieren lasse. Das Ergebnis war negativ und die geringe Punktdichte erschwerte auch hier einen Vergleich der beiden Serien. Immerhin darf auch an diesem Tage auf ultraoptische Orientierung geschlossen werden; denn von 16.40—23.00 Uhr liegen in der Bleiserie 12 Punkte im Abschnitt 1—16 und nur 1 Punkt in der übrigen Fläche 17—32; in der Kartonserie bildet sich zu gleicher Zeit im Kreisdiagramm ein konzentriertes Strahlenbündel in der Achse 2/34. Der letzte Versuch vom 9. Oktober 6.30—23.50 Uhr (abnehmender Halbmond 20.28 Uhr) liess sich nicht auswerten, weil die Käfer besonders in der Bleiserie viel zu unruhig waren. Während des mehr als 17 stündigen Versuchs erfolgten hier in 6 Schalen nur 24 Ruhestellungen gegenüber 35 in der Kartonserie. Auch hier scheint die Bleimasse wie im Versuch 17 die Unruhe der Käfer zu vergrössern. Wenn wir die Ergebnisse jedoch in Kreisdiagramme eintragen, wird ersichtlich, dass sich die Strahlen in der Kartonserie von 7.30—18.30 Uhr zu dichten Bündel zusammenschliessen und in der Bleiserie viel mehr streuen. Ferner fällt auf, dass die mit- oder nacheinander zur Ruhe kommenden Käfer sich häufig ähnlich orientieren (Bildung von Strahlenpaaren in Kreisdiagrammen), was ebenfalls auf eine ultraoptische Orientierung hindeutet.

#### 4. BESPRECHUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE UND SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die vorliegende, statistisch ausgewertete Versuchsreihe beweist, dass die ultraoptische Orientierung der Maikäfer durch die Aufstellung 40 kg schwerer Bleiklötze in ihrer unmittelbaren Nähe beeinflusst werden kann. Daraus muss geschlossen werden, dass der Komplex ultraoptischer Informationen, welche die Tiere aus ihrer Umgebung empfangen und vermutlich zentralnervös verarbeiten, durch die Bleiklötze eine Veränderung erleidet. Die angewandte Methode zum Nachweis solcher Wirkungen erwies sich als zweckmässig und sehr empfindlich. In allen 7 Versuchen dieser Reihe konnten u.o. Orientierungsreaktionen nachgewiesen werden.



Vier davon lassen eine Wirksamkeit der Bleimassen eindeutig erkennen; die restlichen drei wurden wegen ihrer Kürze und zu geringen Punktdichte nur summarisch ausgewertet. Kein Versuch spricht gegen eine Bleiwirkung.

Die Versuchstische sind so stabil gebaut, dass sich der Boden der Glasschalen nicht in der Richtung der Bleiklötze neigt. Eine Abschirmwirkung des Bleis auf durchdringende Strahlen scheint auszuschneiden, weil die Versuchsanlage in einem unterirdischen Raum mit aussergewöhnlich massiven Wänden steht. Die Bleiklötze könnten als metallische Leiter elektrische Felder verzerren. Um diesen Einwand auszuschliessen wurden in der folgenden Versuchsreihe die Kartonattrappen durch massive Magnesiumklötze ersetzt; die Wirkung der Bleimassen liess sich damit nicht eliminieren. In Ermangelung einer besseren Erklärung muss deshalb angenommen werden, der Maikäfer empfinde direkt die nahe Bleimasse und reagiere bei der vorliegenden Versuchsdisposition auf die künstliche Änderung des lokalen Massenverteilungsmusters.

Unsere Untersuchungen über die ultraoptische Orientierung des Maikäfers berühren auch das Problem der sog. „Biologischen Uhr“. An der Existenz biologischer Rhythmen und eines Zeitsinns der Tiere ist heute nicht mehr zu zweifeln, doch bestehen in bezug auf die Informationsquellen, welche zu einer solchen zeitlichen Ordnung im Tierreich führen, noch gegensätzliche Auffassungen. ASCHOFF (1) vertritt den Standpunkt, die Tagesperiodik unter „konstanten“ Laboratoriumsbedingungen sei rein endogener Natur und vererbbar, weil die Rhythmen nicht genau mit der 24-stündigen Periodik der Erdumdrehung übereinstimmen; er hält diesen negativen Befund als ausreichenden Beweis für eine physiologische, von äusseren zeitlichen Informationsquellen vollkommen unabhängige Spontanfrequenz. BROWN (2) ist der Meinung, die sog. „konstanten“ Laboratoriumsbedingungen seien infolge variabler geophysikalischer Einflüsse, auf welche die Tiere ansprechen, gar nicht konstant, und das Tier empfangen vielleicht magnetische Informationen über die periodischen Stellungsänderungen von Sonne und Mond.

Diesen zwei Ansichten wäre nun noch eine dritte gegenüberzustellen, welche sich vorwiegend auf das Studium der ultraoptischen Orientierung des Maikäfers stützt. Aus technischen Gründen ist bisher auf ununterbrochene Versuche von der Dauer

mehrerer Tage, Wochen oder gar Monate verzichtet worden, so dass über Tages- und Monatsrhythmen keine oder nur fragmentarische Ergebnisse vorliegen. Doch sind die Maikäfer sehr oft überindividuellen Orientierungs- und Aktivitätsrhythmen (systematischen Variationen) unterworfen, welche mit keinen trivialen räumlichen oder zeitlichen Informationen in Beziehung gesetzt werden können. Dies würde zunächst zugunsten endogener Rhythmen sprechen, welche infolge gleichartiger Vorgeschichte bei allen Versuchstieren synchronisiert sind. Nun ist es aber unter ganz verschiedenen Versuchsdispositionen immer wieder gelungen, diese Rhythmen durch relative Lageänderungen der Vektoren physikalischer Felder nicht nur zu induzieren, zu verändern und auszulöschen, sondern sie mit der Richtungsänderung solcher Vektoren direkt in Beziehung zu setzen. Damit wird die rein endogene Natur dieser Rhythmen sehr unwahrscheinlich. Wenn die Käfer schliesslich in den vorliegenden Versuchen mit Bleiklötzen Veränderungen des lokalen Massenverteilungsmusters wahrnehmen, sollten sie auch auf die periodischen Lageänderungen der viel stärkeren Gravitationsfelder von Mond und Sonne reagieren.

Es ist kaum anzunehmen, der Empfang und die Verarbeitung solcher ultraoptischer Informationen sei eine Spezialität des Maikäfers. Die Wahrnehmung des erdmagnetischen Feldes, der topographischen Massenverteilungsmuster und der Gravitationsfelder von Mond und Sonne spielt vielleicht neben trivialen Informationsquellen für die räumliche Orientierung mancher Tiere eine bedeutende Rolle. Die relativen Lageänderungen der Schwerefeldvektoren von Mond und Sonne zueinander und vor allem zu den Vektoren irdischer Felder könnten zudem Elemente für eine präzise Periodik und Zeitbestimmung liefern. Bildlich gesprochen bleibt von manchen „Biologischen Uhren“ vielleicht nur das Zifferblatt und das Zentrum zur Verarbeitung der Informationen im Tier übrig, die Zeiger müssen in seiner irdischen und kosmischen Umwelt gesucht werden. Die von ASCHOFF als Gegenbeweis angeführte Diskordanz zwischen Ortszeit und „Innerer Uhr“ darf nicht überschätzt werden, solange man noch keine Ahnung hat, wie Tiere in verschiedenen physiologischen Zuständen die vielfältigen ultraoptischen Informationen integrieren. Der Umschlag eines 24-stündigen in einen etwa 25-stündigen Rhythmus in sog. „konstanten“ Versuchsbedingungen könnte dem Übergang von einer

Sonntagperiodik zu einer Montagperiodik entsprechen, was weiter nicht verwunderlich ist, wenn man bedenkt, dass die Zeitenbeschleunigung des Mondes auf der Erde etwa doppelt so stark ist wie diejenige der Sonne.

### ZUSAMMENFASSUNG

In einer Reihe statistisch ausgewerteter Versuche ist es gelungen, die ultraoptische Orientierung der Maikäfer mit 40 kg schweren, neben den Versuchsschalen aufgestellten Bleiklötzen zu beeinflussen. In Ermangelung einer naheliegenderen Erklärung dieses Effekts wird angenommen, dass die Tiere Veränderungen des Massenverteilungsmusters in ihrer Umgebung direkt wahrnehmen können. Da die Gravitationsfelder von Mond und Sonne auf der Erde stärker sind als diejenigen der Bleiklötze in den Versuchsschalen, werden wahrscheinlich auch die Positionsänderungen dieser Himmelskörper direkt registriert. Theoretisch könnten alle diese Informationen über topographische und kosmische Gravitationsmuster zusammen mit der Wahrnehmung des erdmagnetischen Feldes sehr präzise Elemente für die räumliche Orientierung liefern und die "Biologische Uhr" in Gang halten.

### RÉSUMÉ

L'orientation ultraoptique des hannetons (*Melolontha vulgaris* F.) placés dans des écuelles peut être influencée par des blocs de plomb placés à proximité. Faute d'une explication plus satisfaisante, l'auteur admet que ces insectes enregistrent les modifications de répartition des masses dans leur voisinage immédiat. Comme les champs de gravitation du soleil et de la lune sont supérieurs dans ces expériences à celui du plomb voisin, il semble probable que les variations de gravitation consécutives aux mouvements de ces astres puissent être aussi ressenties. Théoriquement, les informations concernant les variations gravitationnelles d'origine topographique ou cosmique, conjointement avec la perception du champ magnétique terrestre, peuvent fournir des données très précises pour l'orientation spatiale de ces insectes et la mise en marche de leur « horloge biologique ».

## SUMMARY

Ultraoptic orientation of cockchafer (*Melolontha vulgaris* F.) can be influenced by placing blocks of lead weighing 40 kg near the experimental dishes. In default of a more obvious explanation it has been concluded that the animals exhibit a response to changes of gravitation patterns in their environment. Considering the superiority of the gravitation fields of moon and sun in the dishes, the cockchafer probably perceive the rhythmical positional changes of these cosmic masses directly. Theoretically all this information on topographical and cosmic gravitation patterns combined with the perception of the terrestrial magnetic field could yield accurate elements for spatial orientation and set in motion the "biological clocks".

## LITERATUR

1. ASCHOFF, J., 1964. *Zeitliche Ordnung des Lebendigen*. Naturwissenschaftliche Rundschau, 17: 43-49.
  2. BROWN, F., 1963. *How animals respond to magnetism*. Discovery (London), 18-22.
  3. SCHNEIDER, F., 1963. *Ultraoptische Orientierung des Maikäfers (Melolontha vulgaris F.) in künstlichen elektrischen und magnetischen Feldern*. Ergebnisse der Biologie, 26: 147-157.
  4. — 1963. *Ungewöhnliche Sinnesleistungen des Maikäfers*. Schweiz. Ztschr. f. Obst- und Weinbau, 72: 536-538.
  5. — 1963. *Systematische Variationen in der elektrischen, magnetischen und geographisch-ultraoptischen Orientierung des Maikäfers*. Vierteljahrsschr. Naturforsch. Ges. Zürich, 108: 373-416.
-





N° 12.	TSCHUMI, P. A. Die Evolution der Gliedmassen in entwicklungsphysiologischer Perspektive. Mit 5 Textabbildungen . . . . .	215-236
N° 13.	MICHEL, Franz. Erste Ergebnisse vergleichender Messungen am Schädel des eiszeitlichen, in der Schweiz gefundenen Murmeltiers <i>Marmota marmota</i> . Mit 1 Textabbildung und 8 Diagrammen . . . . .	237-254
N° 14.	FYG, W. Eine eigenartige Entwicklungsanomalie der Honigbiene ( <i>Apis mellifica</i> ). Mit 5 Textabbildungen . . . . .	255-266
N° 15.	EAKIN, Richard M. Development of the third eye in the lizard <i>Sceloporus occidentalis</i> . With seven text figures . . . . .	267-286
N° 16.	WITSCHI, Emil und Saylo MUNEMITSU. Fetal stage of a male pseudohermaphrodite. With 1 text figure and 2 plates . . . . .	287-298
N° 17.	HEDIGER-ZURBUCHEN, H. und K. Einige ungewöhnliche Lokomotionsweisen bei Säugetieren. Mit 9 Textabbildungen . . . . .	299-310
N° 18.	JÉQUIER, Jean-Pierre. Etude écologique et statistique de la faune terrestre d'une caverne du Jura Suisse au cours d'une année d'observation. Avec 12 figures, 5 planches et 2 plans hors texte . . . . .	313-370
N° 19.	DUBOIS, Georges. Contribution à l'étude des Trématodes de Chiropères. Avec 3 figures dans le texte . . . . .	371-382
N° 20.	GISIN, Hermann. Collemboles d'Europe. VI. Avec 17 figures dans le texte . . . . .	383-400
N° 21.	MATTHEY, Robert. Etudes sur les chromosomes d' <i>Ellobius lutescens</i> (Mammalia — Muridae — Microtinae). Avec 17 figures dans le texte . . . . .	401-410
N° 22.	BESUCHET, Claude. Psélaphides paléarctiques. Espèces nouvelles et notes synonymiques. II ( <i>Coleoptera</i> ). Avec 35 figures dans le texte . . . . .	411-444
N° 23.	KUNZ, Yvette. Morphologische Studien über die embryonale und postembryonale Entwicklung bei Teleostiern mit besonderer Berücksichtigung des Dottersystems und der Leber. Mit 39 Textabbildungen . . . . .	445-525
N° 24.	ASCHOFF, J. Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen und Erling-Andechs. Die Tagesperiodik licht- und dunkelaktiver Tiere. Mit 16 Textabbildungen . . . . .	528-558
N° 25.	DEUCHLER, K. Neue Fledermausfunde aus Graubünden . . . . .	559-560
N° 26.	EIGENMANN, R. Biochemische Untersuchungen der Flugmuskulaturentwicklung von <i>Antheraea pernyi</i> Guér. ( <i>Lep.</i> ). Mit 3 Textabbildungen und einer Tabelle . . . . .	561-568
N° 27.	ERNST, E. Bemerkungen zu den Soldaten von <i>Acanthotermes acanthothorax</i> Sjöst. ( <i>Isoptera</i> ). Mit 4 Textabbildungen . . . . .	569-576
N° 28.	HADORN, E. und A. GARCIA-BELLIDO. Zur Proliferation von <i>Drosophila</i> -Zellkulturen im Adultmilieu. Mit 3 Textabbildungen und einer Tabelle . . . . .	576-582
N° 29.	HADORN, E. P. REMENSBERGER und H. TOBLER. Autonomie in der Hodenentwicklung und Dissoziation von Chemogenese und Histogenese bei <i>Drosophila melanogaster</i> Mit 3 Textabbildungen . . . . .	583-592
N° 30.	DE HALLER, G. Altération expérimentale de la stomatogenèse chez <i>Paramesicium aurelia</i> . Avec 1 schéma et 6 figures . . . . .	592-600
N° 31.	KÄLIN, J. Zur evolutionen Deutung des Extremitäten-Typus bei Pongidern und Hominiden . . . . .	601-603
N° 32.	KUNZ, E. und M. REIFF. Wachstum und Nahrungsauswertung coeektomierter Ratten. Mit 4 Abbildungen und einer Tabelle . . . . .	603-609
N° 33.	MISLIN, H. und R. KRAUSE. Die Schrittmachereigenschaften des Herzschrägs bei der Termite <i>Ciona intestinalis</i> L. und ihre Beziehung zur Reversion des Herzschrägs . . . . .	610-626
N° 34.	RUPPLI, E. und M. LÜSCHER. Die Elimination überzähliger Ersatzgeschlechtstiere bei der Termite <i>Kaloterms flavicollis</i> (Fabr.). (Vorläufige Mitteilung). Mit 3 Textabbildungen . . . . .	626-632
N° 35.	SCHNEIDER, F. Die Beeinflussung der ultraoptischen Orientierung des Maikäfers durch Veränderung des lokalen Massenverteilungsmusters. Mit 5 Textabbildungen . . . . .	632-648

PUBLICATIONS  
DU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

En vente chez GEORG & Cie, libraires à Genève.

CATALOGUE DES INVERTÉBRÉS DE LA SUISSE

Fasc. 1. SARCODINÉS par E. PENARD	Fr. 12.—
Fasc. 2. PHYLLOPODES par Th. STINGELIN	» 12.—
Fasc. 3. ARAIGNÉES par R. DE LESSERT	» 42.—
Fasc. 4. ISOPODES par J. CARL	» 8.—
Fasc. 5. PSEUDOSCORPIONS par R. DE LESSERT	» 5.50
Fasc. 6. INFUSOIRES par E. ANDRÉ	» 18.—
Fasc. 7. OLIGOCHÈTES par E. PIGUET et K. BRETSCHER	» 18.—
Fasc. 8. COPÉPODES par M. THIÉBAUD	» 18.—
Fasc. 9. OPILIONS par R. DE LESSERT	» 11.—
Fasc. 10. SCORPIONS par R. DE LESSERT	» 3.50
Fasc. 11. ROTATEURS par E.-F. WEBER et G. MONTET	» 38.—
Fasc. 12. DÉCAPODES par J. CARL	» 11.—
Fasc. 13. ACANTHOCEPHALES par E. ANDRÉ	» 11.—
Fasc. 14. GASTÉROTRICHES par G. MONTET	» 18.—
Fasc. 15. AMPHIPODES par J. CARL	» 12.—
Fasc. 16. HIRUDINÉES, BRANCHIOBELLES et POLYCHÈTES par E. ANDRÉ	» 17.50
Fasc. 17. CESTODES par O. FUHRMANN	» 30.—
Fasc. 18. GASTÉROPODES par G. MERMOD	» 68.—

LES OISEAUX DU PORT DE GENÈVE EN HIVER

par F. DE SCHAECK

Avec 46 figures dans le texte.

Fr. 6.—

---

En vente au Muséum d'Histoire naturelle de Genève.

CATALOGUE ILLUSTRÉ DE LA COLLECTION LAMARCK  
APPARTENANT AU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

1<sup>re</sup> partie. — FOSSILES — 1 vol. 4<sup>o</sup> avec 117 planches.

Fr. 300.—

---

COLLEMBOLENFAUNA EUROPAS von H. GISIN

312 Seiten, 554 Abbildungen

Fr. 24.—



50)  
Tome 71

Fascicule 4 (N° 42)

Décembre 1964

x

# REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

ANNALES

DE LA

SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

ET DU

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

MAURICE BEDOT

fondateur

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

EMILE DOTTRENS

Directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève

AVEC LA COLLABORATION DE

HERMANN GISIN

Conservateur des arthropodes

et

EUGÈNE BINDER

Conservateur des invertébrés

**Jean-Pierre RIBAUT**

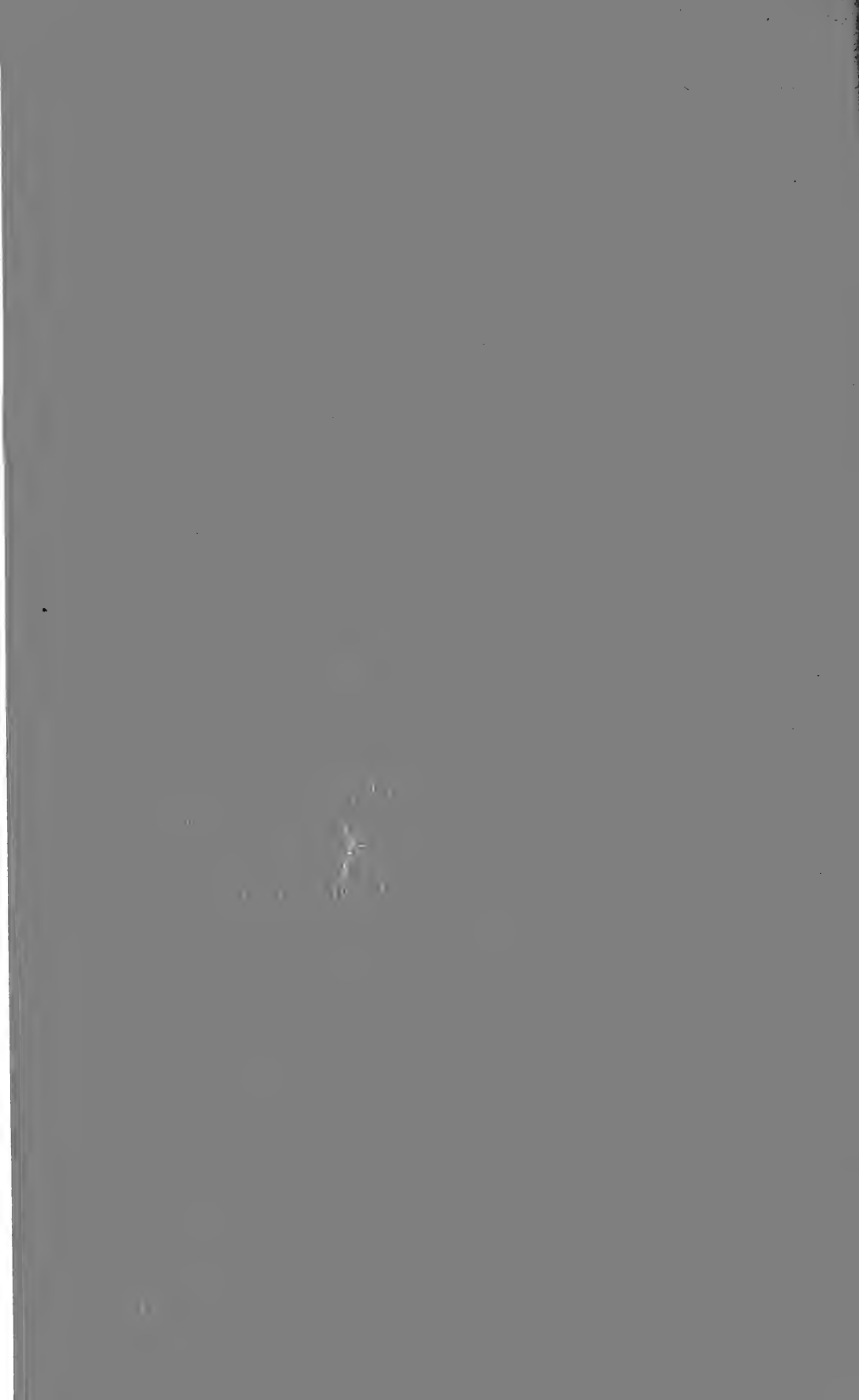
**Dynamique d'une population de Merles noirs  
*Turdus merula* L.**

Avec 28 figures dans le texte.

GENÈVE

IMPRIMERIE KUNDIG

1964



# Dynamique d'une population de Merles noirs, *Turdus merula* L.

par

**Jean-Pierre RIBAUT**

Musée zoologique, Lausanne

Avec 28 figures dans le texte

## TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION . . . . .	816
CHAPITRE PREMIER: <i>Problèmes et techniques</i>	
1. Terrain d'étude et méthode de travail . . . . .	818
2. Biologie d'un couple et problèmes étudiés . . . . .	823
CHAPITRE 2: <i>Le territoire</i>	
1. Territoire et domaine vital . . . . .	826
2. La conquête du territoire . . . . .	828
3. La défense territoriale . . . . .	830
4. La fidélité au territoire . . . . .	835
5. La réserve de population . . . . .	838
6. Discussion . . . . .	841
CHAPITRE 3: <i>La nidification</i>	
1. Emplacement du nid . . . . .	843
2. La construction du nid . . . . .	849
3. De la ponte à l'éclosion . . . . .	851
4. Nombre d'œufs par ponte . . . . .	853
5. Discussion . . . . .	855
CHAPITRE 4: <i>Issue des nids</i>	
1. Vue d'ensemble . . . . .	861
2. Couvées réussies . . . . .	862
REV. SUISSE DE ZOOL., T. 71, 1964.	57

3. Couvées détruites par des prédateurs . . . . .	865
4. Nids et couvées abandonnés . . . . .	867
5. Discussion . . . . .	869
CHAPITRE 5: <i>Prédateurs des couvées</i>	
1. Observations directes . . . . .	874
2. Procédé d'étude: l'œuf postiche . . . . .	875
3. Les résultats . . . . .	878
4. Discussion . . . . .	883
CHAPITRE 6: <i>Dynamique de la population</i>	
1. Taux de reproduction de la population . . . . .	884
2. Mortalité de la population . . . . .	885
3. Structure et stabilité de la population . . . . .	890
4. Discussion . . . . .	892
CONCLUSIONS . . . . .	894
RÉSUMÉ . . . . .	896
SUMMARY . . . . .	899
BIBLIOGRAPHIE . . . . .	901

---

## INTRODUCTION

L'étude des populations d'oiseaux et de leur dynamique en est à ses débuts. La pratique intensive du baguement comme moyen d'investigation remonte à quelques dizaines d'années seulement et l'utilisation de bagues de couleurs, seule technique permettant d'identifier les individus d'une population donnée, est encore plus récente.

Depuis la publication fondamentale de M. NICE: « The life history of the Song Sparrow-*Melospiza melodia* » en 1937, des travaux de plus en plus nombreux ont vu le jour. Ils constituent des documents très intéressants, mais ne permettent pas encore de connaître de manière satisfaisante l'influence des divers facteurs

qui interviennent dans la régulation des populations d'oiseaux. Ce problème est en effet très complexe, comme le montreront aussi les conclusions de cette étude.

C'est la raison pour laquelle les recherches concernant une population déterminée et poursuivies pendant plusieurs années présentent un grand intérêt.

En 1958, D. W. SNOW publia un mémoire où il relate ses observations concernant les Merles du Jardin botanique d'Oxford et cette étude me suggéra d'entreprendre un travail semblable. C'est ainsi que, dès fin 1958, je me suis mis en quête d'un terrain d'étude riche en Merles et aussi peu fréquenté que possible du public. Après quelques mois de prospection, mon choix s'est arrêté sur la campagne de Bellerive, propriété privée située dans la région sud-ouest de Lausanne, entre le Port d'Ouchy et Bellerive-Plage. Ce grand parc est actuellement le siège de l'Institut Imede, et c'est pour des raisons de commodité que je le désignerai à l'avenir par le terme Imede.

Le travail sur le terrain débuta le 27 février 1959. Il s'est poursuivi depuis cette date avec régularité; mais pour la présente étude, les observations ont été arrêtées au 15 août 1962. Elles portent donc sur 4 saisons de nidification.

Avant d'exposer ces recherches, j'aimerais remercier toutes les personnes qui ont permis leur réalisation: M. le professeur J. de Beaumont, directeur du Musée zoologique de Lausanne et M. le Dr A. Schifferli, directeur de la Station ornithologique suisse de Sempach, qui ont patronné mon travail et dont j'ai hautement apprécié les conseils et suggestions; M. le professeur R. Matthey, à qui je dois ma formation de zoologiste, M. le professeur H. A. Guénin, qui a également témoigné un vif intérêt pour mes recherches. Ma gratitude va encore aux collaborateurs du Musée zoologique et de l'Institut de zoologie, plus spécialement à M. Ed. Cornu; à M. le professeur J.-P. Imhof, pour s'être occupé de l'aspect statistique de mon travail, et à M<sup>lle</sup> A. Rochat, qui m'a régulièrement transmis ses observations de Merles bagués. Enfin, je remercie tout particulièrement M. le Dr Ch. Chessex, mon « père spirituel », qui m'a non seulement initié à l'ornithologie, mais n'a cessé de me faire bénéficier de sa compétence et de son enthousiasme.

## CHAPITRE PREMIER

## PROBLÈMES ET TECHNIQUES

## 1. TERRAIN D'ÉTUDE ET MÉTHODE DE TRAVAIL

La propriété Imede est un grand parc privé de forme rectangulaire, mesurant 300 m de long et 200 m de large: la surface est donc de 6 ha. La photo aérienne (fig. 1) donne une idée de l'aspect de ce terrain, caractérisé par une ceinture de grands arbres. Les espèces présentes sont très variées: marronniers, hêtres, ormes, érables, charmes, épicéas, etc.<sup>1</sup>. Le sous-bois, souvent très clairsemé, surtout au sud, est constitué par des essences diverses telles que buis, sureaux, houx, lauriers (fig. 3 et 4). Une allée d'arbres rectiligne allant du N.-O. au S.-E. divise la zone centrale en deux grands prés. Nous y trouvons quelques très beaux arbres: tilleuls, tulipiers, cèdres, thuyas, pins.

Entre l'aire boisée du secteur nord et les diverses maisons qui bordent la propriété se rencontre une série de jardinets avec plates-bandes, petits composts et arbres fruitiers. Ce secteur est particulièrement riche en Merles, qui trouvent en outre d'abondantes possibilités de nidification dans le lierre recouvrant plusieurs vieux murs. Dans la partie ouest nord-ouest de la propriété il y a quelques bâtiments entre lesquels se déplacent les étudiants de l'Institut Imede. Ceux-ci n'ont jamais gêné mes observations, ni prêté attention aux Merles, mais ont au contraire quelque peu habitué ces derniers à l'homme. Toute cette région est particulièrement bien entretenue par le jardinier; les pelouses sont régulièrement rasées et arrosées par temps sec. Cela revêt une grande importance, car les Merles y trouvent au printemps de la nourriture en permanence.

Le domaine est isolé de l'extérieur par un mur imposant, sauf du côté nord. Cela n'empêche évidemment pas les Merles d'aller et venir et plusieurs couples ont régulièrement établi leur territoire à cheval sur le terrain étudié et les environs. Cette situation s'est

---

<sup>1</sup> Noms scientifiques, voir p. 847.



FIG. 1.

Vue aérienne du parc Imede (photographie du service topographique fédéral).

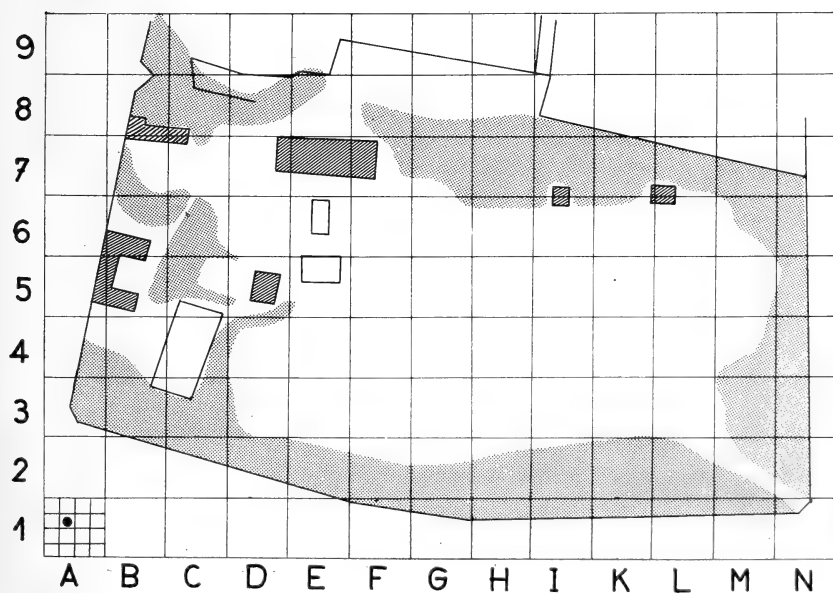


FIG. 2.

Plan du parc Imede. Echelle: 1 carré a 25 m de côté.



FIG. 3.

Le secteur sud du parc (en automne).



FIG. 4.

Le secteur nord-ouest du parc (en automne).



produite le long de la limite sud où la densité des oiseaux est toujours relativement faible et à l'est, où un jardin abandonné et de vieilles baraques offrent d'intéressants sites de nidification.

Afin de pouvoir noter avec précision l'emplacement des oiseaux et des nids, j'ai divisé la surface du parc en carrés de 25 mètres de côté (voir fig. 2). Puis j'ai effectué un second quadrillage, en subdivisant chaque carré primitif en 16 nouveaux petits carrés qui ont donc 6,25 m de côté. Dans ce second réseau, la numérotation va de gauche à droite, puis de bas en haut. Ainsi la petite tache de la case A1 sera-t-elle notée A1<sub>10</sub>. Ce procédé m'a permis de relever l'emplacement des oiseaux avec beaucoup de précision puisque leur position est déterminée à 6 m près. En parlant de notation, je signale encore que lorsque plusieurs nids se succèdent au même endroit, par exemple en E8<sub>14</sub>, le premier est dénommé E8<sub>14</sub>, le second E8'<sub>14</sub>, le troisième E8''<sub>14</sub>, etc.

Mes observations se concentrant sur la période de reproduction, j'ai essayé d'avoir au début de chaque printemps le plus grand nombre de Merles bagués. Je les ai capturés soit avec des filets en nylon, soit avec des trappes Potter appâtées avec des flocons d'avoine et des raisins secs. Cette dernière technique m'a permis d'attraper les individus non bagués même en mai-juin.

Pendant ces quatre années, 262 Merles ont été bagués, soit 96 mâles, 88 femelles et 78 jeunes au nid. Dans leur premier automne, les jeunes Merles subissent une mue partielle. A partir de cette époque, et jusqu'à la mue suivante, on distingue aisément les couvertures alaires du plumage juvénile de celles du plumage adulte, grâce à leur différence de coloration. C'est par cette particularité que j'ai pu déterminer les individus nicheurs qui étaient dans leur première année. Tous les Merles ont été munis d'une bague aluminium de la Station ornithologique de Sempach et de 3 bagues de couleur choisies dans un assortiment de 6 couleurs. J'ai employé le système de notation de la Station ornithologique de Radolfzell, qui confère à chaque couleur un chiffre. Ainsi tous les Merles bagués ont comme numéro matricule un nombre de 4 chiffres. Les jeunes au nid sont également bagués en couleurs, mais afin de ne pas épuiser le nombre de mes combinaisons, une de leurs quatre bagues est une bague bicolore. Ces bagues colorées sont en celluloid et l'oiseau ne les perd pratiquement pas; je n'ai observé qu'une perte de bague en 4 ans. Les couleurs employées sont le rouge, le jaune, le vert, le

bleu, le blanc et le rose; elles résistent très bien à l'action du temps et ne se modifient que très peu, ayant cependant une tendance à pâlir.

La proportion d'oiseaux qui étaient bagués au moment de la nidification est de 48% en 1959, 82% en 1960 et 93% en 1961 et 1962. J'ai mesuré dès le début de mon travail la longueur de l'aile, puis dès 1961, j'ai pesé tous les individus capturés. Les jeunes au nid ont généralement été bagués et pesés à l'âge de 8 jours.

Les observations sur le terrain ont, dans la règle, été quotidiennes au printemps, dimanches exceptés! Pendant le reste de l'année, leur fréquence a été très variable: bimensuelles à certaines époques, hebdomadaires à d'autres, quotidiennes pendant les périodes de capture en hiver. De mars à juillet j'ai observé essentiellement tôt le matin, quelquefois en fin d'après-midi. Mon outil de travail a été une jumelle 10×60<sup>1</sup>. J'ai employé occasionnellement un miroir mobile monté sur une perche de quatre mètres de long, ce qui m'a permis de connaître le contenu de certains nids haut placés.

Pour ne pas perturber le comportement des oiseaux, j'ai adopté dès le début des consignes très strictes. C'est ainsi que je n'ai jamais chassé une femelle de son nid pour compter le nombre d'œufs qu'elle couvait. Je ne l'ai pas regretté, car je puis affirmer que les nombreux abandons de pontes observés chaque année n'ont pas été provoqués par ma présence.

Voici un exemple concret qui prouve que ces abandons ne sont pas dus à mes contrôles:

- |             |  |
|-------------|--|
| 7 mai 1960: | la femelle construit un nid.   |
| 9 » »       | 2 œufs chauds à 12 heures.   |
| 10 » »      | 2 œufs à 6 heures.   |
| 11 » »      | 3 œufs plutôt froids.  |
| 12 » »      | la femelle couve ou pond. Je ne la dérange pas et continue mon chemin.                           |
| 13 » »      | la femelle se rend au nid.   |
| 14 » »      | la femelle couve.  |
| 17 » »      | la femelle couve.  |
| 19 » »      | je contrôle 5 œufs; la femelle regagne son nid lorsque je pars.                                  |
| 20 » »      | la femelle couve.  |
| 21 » »      | 5 œufs mouillés, froids, la ponte est abandonnée; la femelle construit un nouveau nid le 26 mai. |

<sup>1</sup> L'acquisition de cet instrument m'a été grandement facilitée par un subside des Fonds Agassiz et Forel de la S.V.S.N.

Il faut donc considérer ces abandons comme une caractéristique de la population d'Imede. Le revers de la médaille, c'est qu'avec les précautions prises, le nombre d'œufs de plusieurs pontes complète n'a pu être noté.

La prédations dans les nids revêtant dans cette population une grande ampleur, j'ai cherché un moyen de connaître les auteurs de ces pillages. Dès le mois de mai 1960, j'ai utilisé une technique inédite, le procédé de « l'œuf postiche », qui m'a renseigné dans un grand nombre de cas sur l'identité des prédateurs.

## 2. BIOLOGIE D'UN COUPLE ET PROBLÈMES ÉTUDIÉS

En portant mon choix sur les Merles d'Imede, je ne me doutais pas, en 1959, que j'aurais à étudier une population aux caractéristiques très particulières et certainement non représentative de l'ensemble des Merles de Lausanne ou de la Suisse. Il m'a semblé intéressant de retracer ici l'évolution d'un des 27 couples d'Imede pendant les quatre années d'observation, afin d'évoquer concrètement la nature des problèmes auxquels je me suis intéressé. Le couple dont je vais relater les diverses activités a été choisi parce que sa biologie reflète assez bien celle du couple « type » d'Imede.

Le 28 février 1959 je capture au filet, parmi plusieurs autres, le ♂ 3531, âgé d'un an et la ♀ 3441 qui a deux ans au minimum. Ce couple niche sur les lieux de capture et le 20 avril, la femelle construit un nid dans un thuya. Le premier œuf est pondu le 20 avril et 2 jours plus tard, il y en a deux, qui ne seront jamais couvés. Le nid est donc abandonné. Le 19 mai, le mâle parade devant la femelle, alors que cette dernière doit couvrir. J'en ai la preuve le 30 mai, jour où je découvre un nid contenant 4 jeunes âgés d'environ 4 jours. Le premier œuf a donc été pondu aux environs du 11 mai. Le 2 juin, il n'y a plus que 3 jeunes, bagués le lendemain. Mais le 5 juin, le nid est vide, le prédateur n'ayant laissé aucune trace.

Quelques jours plus tard, le couple recommence à nicher. Le nid subit le même sort que les précédents: le 16 juin il est vide, alors que le 13 il contenait deux œufs. Une quatrième tentative est entreprise, et le 23 juin j'observe la femelle qui se précipite dans son nid tandis qu'un Ecureuil déambule non loin de là. L'issue de ce nid m'est inconnue. Le couple est revu sur place le reste de l'année.

Le 12 mars 1960 commence pour le mâle une période difficile. Il doit en effet se défendre contre un mâle adulte qui cherche à se créer un territoire au détriment de ses voisins. Après 3 semaines de combats acharnés, cet intrus arrive à ses fins et le territoire du 3531 est amputé au sud du quart de sa surface (fig. 5). Pendant

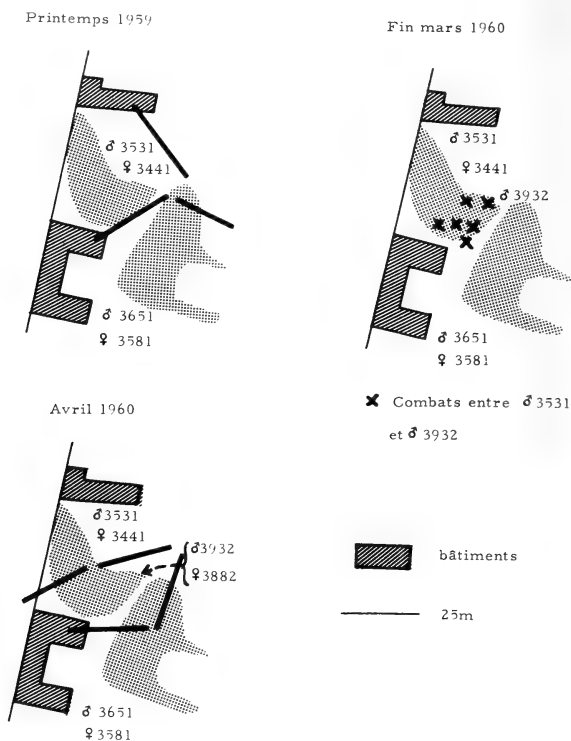


FIG. 5.

Evolution des limites territoriales du couple 3531, 3441.

cette période agitée, la ♀ 3441 entreprend la construction d'un premier nid le 1<sup>er</sup> avril et pond le premier œuf le 8. Ce même jour, je constate qu'elle n'est pas accompagnée par « son » mâle, mais par un autre mâle bagué, le 3842, âgé d'un an et bagué le 12 mars 1960 dans les environs. Très surpris par cette observation, je m'approche du couple et découvre à terre le cadavre frais du ♂ 3531. Il n'y a donc plus de mystère et la femelle ne sera pas restée longtemps

veuve ! Elle continue à s'occuper de sa ponte, couvant le 12 avril deux œufs (ponte complète). Le 14, ces derniers sont froids, la femelle les ayant abandonnés.

La tentative suivante échoue également, ce qui est à nouveau dû à un prédateur. Le même sort est encore réservé au troisième nid, mais cette fois-ci je connais l'auteur du délit, grâce au procédé de « l'œuf postiche » ; il s'agit d'un Ecureuil. Un quatrième, puis un cinquième essai est entrepris, mais aucun n'aboutit à l'envol de jeunes.

C'est ainsi qu'arrive la fin de la saison de reproduction, marquée par le décès de la femelle le 22 juin. Dans les jours qui suivent, j'observe le mâle seul, mais le 14 juillet, il est accompagné par une femelle non baguée.

Pendant l'hiver 1960-1961, le territoire du couple est fréquenté non seulement par le ♂ 3842, mais aussi par d'autres Merles. Toutefois, dès fin février 1961, le comportement territorial se développe à nouveau et le mâle manifeste une grande agressivité sur son secteur, qui s'est légèrement déplacé vers le nord. Le 4 mars, il est observé en compagnie de la ♀ 3482 : le couple est formé. Pendant ce mois, le mâle doit souvent défendre son territoire contre les mâles environnants : le ♂ 4331 au nord, et surtout le ♂ 4391 au sud. Durant cette nouvelle saison de reproduction, le couple construit 3 nids. Le premier est abandonné avant la ponte, le deuxième pendant l'incubation (avec 3 œufs) et le troisième est détruit par un prédateur alors qu'il contient 2 jeunes. En automne, le couple éclate. Le mâle se déplace au nord-est et la femelle au nord-nord-ouest. Le mâle est en outre régulièrement observé à l'Avenue de la Harpe, soit à 400 m au nord-est de son secteur, et ceci du 7 décembre 1961 au 6 mars 1962. Il s'y nourrit de raisins secs, mais reste néanmoins fidèle à Imede.

Au mois de février, alors que la ♀ 3482 est appariée à un mâle non bagué, le ♂ 3842 est rejoint par la ♀ 3592. Cette dernière nicha en 1960 en M7 et fut absente du parc pendant l'année 1961. Elle construit à fin mars son premier nid, qui évolue favorablement jusqu'au 30 avril, date à laquelle les 3 petits bagués 3 jours plus tôt, sont emportés par un prédateur. Dans les jours qui suivent a lieu un phénomène tout à fait unique : les femelles 3592 et 3482 permutent et le ♂ 3842 retrouve donc « sa » femelle de l'an dernier. Le couple reconstitué entreprend successivement 3 nids mais le

premier est abandonné, le second détruit par un prédateur et le troisième donne enfin 3 jeunes qui s'envolent vers la mi-juillet.

Je signalerai pour terminer, que le 16 juin 1962 a débuté, sur le territoire de ce couple, la construction du nid d'un couple étranger.

C'est ainsi que se présente l'histoire abrégée d'un couple d'Imede. Je dis abrégée, car ce résumé est établi à partir de quelque 330 observations. Plusieurs constatations sont assez surprenantes. D'abord, la grande exigüité des territoires, en relation avec la forte densité des nicheurs, ensuite, le faible nombre d'œufs par ponte. Les 11 pontes complètes connues de ce couple se répartissent en 4 pontes à 2 œufs, 4 pontes à 3 œufs et 3 pontes à 4 œufs. Le nombre d'œufs moyen est donc très faible, inférieur à 3 dans le cas particulier. Enfin, l'impression la plus marquante est le peu de succès qu'ont connu les nids sur ce territoire. En effet, sur 16 nids entrepris en quatre ans, un seul a certainement réussi, permettant l'envol de 3 jeunes. L'issue d'un deuxième m'est inconnue, un troisième a été abandonné avant la ponte, 5 abandonnés alors qu'ils contenaient des œufs et enfin 8 ont été détruits par des prédateurs.

Toutes ces remarques ne sont pas seulement le reflet de la biologie du couple étudié plus haut, mais de toute la population d'Imede.

## CHAPITRE II

### LE TERRITOIRE

#### 1. TERRITOIRE ET DOMAINE VITAL

Je définirai le territoire comme la plupart des auteurs (LACK, etc.) en désignant par ce terme tout espace défendu par un Merle contre d'autres Merles. J'appellerai domaine vital, l'espace parcouru par un oiseau pendant ses activités quotidiennes.

Le Merle défend son territoire par des combats, des parades d'intimidation et il poursuit plus ou moins violemment les intrus. La localisation de ces diverses activités, de même que l'emplacement des postes de chant permettent de déterminer la surface du territoire et ses frontières, qui ne sont pas obligatoirement rigides pendant le printemps.

Pour calculer la superficie moyenne d'un territoire à Imede, je divise la surface étudiée par le nombre de couple nicheurs. Il convient cependant de soustraire aux 6 ha. du parc les 2 ha. correspondant à la surface du pré central et de quelques autres



FIG. 6.

Répartition des territoires et des nids en 1962;  
(les deux mâles au nord du bâtiment principal sont bigames).

terrains neutres. Nous obtenons alors: 4 ha. occupés par 27 ou 28 couples, ce qui donne comme superficie d'un territoire: 14 a., soit la surface d'un carré de 37 m de côté. Mais de nombreux territoires sont plus petits, tout spécialement dans la partie nord-ouest du parc. Dans cette région ils n'ont couramment que 6 ou 8 a., alors qu'au sud, ils couvrent généralement 20 ou 30 a. (voir fig. 3, 4 et 6).

Même au printemps, où l'activité territoriale est maximum, les Merles ne vivent pas toute la journée sur leur territoire. Lorsqu'un mâle voisin est invisible, le Merle franchit couramment les frontières pour se nourrir jusqu'au moment où le « propriétaire » le refoule. Les oiseaux vont également se nourrir sur des plates-bandes et des pelouses, où ils pâturent ensemble, sans se battre.

De tels emplacements, où les individus ne se chassent pas les uns les autres, sont considérés comme terrains neutres. Le domaine vital du Merle est donc sensiblement plus grand que le territoire et il se compose des trois éléments suivants: le territoire, les alentours de ce territoire et des terrains neutres.

Les centres alimentaires importants: plates-bandes de G8-H8, pelouses E9 et D7, p. ex., sont presque toujours terrains neutres et visités par plusieurs couples. Le cas des cerisiers de C9 et M7 est à ce point de vue typique. Au début du printemps, ils sont défendus par les mâles résidents comme n'importe quelle autre partie de leur territoire; puis, dès que ces arbres ont des cerises, ils deviennent terrains neutres et sont visités par plusieurs couples. Je suppose que la concentration des Merles est telle qu'aucun couple n'est assez fort pour s'approprier, c'est-à-dire inclure dans son territoire, ces centres de nourriture et pour résister à la forte pression des couples environnants.

## 2. CONQUÊTE DU TERRITOIRE

De juillet à septembre, le comportement territorial, appelé aussi territorialité, est inexistant. A l'approche de l'automne, il se développe et quelques combats ont lieu, mais il s'agit plutôt d'escarmouches que de véritables batailles. Les anciens mâles manifestent généralement leur comportement territorial sur leurs territoires de la saison écoulée. Les jeunes mâles et les mâles plus âgés qui cherchent un nouveau territoire sont alors souvent chassés. Mais comme l'agressivité des résidents est relativement sporadique, les nouveaux réussissent souvent à s'établir, par exemple à la jonction de plusieurs territoires, ou en s'appropriant une portion de territoire. Les anciens propriétaires ne se battent pas seulement avec les nouveaux venus, mais aussi entre eux. Les disputes entre voisins ne sont donc pas rares.

En décembre-janvier, les conditions météorologiques deviennent plus rigoureuses; simultanément la territorialité baisse. Profitant du temps froid et de la présence de la neige, j'ai effectué 131 captures pendant ces deux mois. Elles me permettent d'affirmer que les futurs nicheurs, qu'ils soient mâles ou femelles, sont à ce moment déjà sur leurs prochains lieux de nidification. Ils n'y passent cependant qu'une partie de la journée, se déplaçant encore beaucoup à



la recherche de nourriture. A cette même époque, décembre-janvier, les couples sont peut-être déjà formés.

Dès fin février commence pour les mâles la période décisive. La coexistence pacifique évolue brusquement en une série de conflits dont la fréquence et l'intensité atteignent leurs maximums dans la deuxième moitié de mars. Les anciens mâles nicheurs cherchent à reconquérir leur territoire de l'an dernier en expulsant les intrus qui tentent de s'y établir. Des combats entre mâles voisins éclatent également et leur localisation permet de définir les nouvelles frontières. Parmi les nouveaux individus qui cherchent à conquérir un territoire, je distinguerai deux groupes. Il y a d'abord ceux qui vivent depuis plusieurs semaines ou mois sur un territoire dont le mâle a disparu. Ceux-là réussissent généralement à s'imposer facilement et se comportent de la même manière que les anciens mâles. Le deuxième groupe, nettement le plus important, comprend surtout des jeunes mâles qui sont obligés d'essayer de s'établir à la limite de quelques territoires existants et de refouler ainsi les individus qui s'y trouvent. Dans cette deuxième catégorie, les tentatives couronnées de succès sont beaucoup moins nombreuses que les échecs, car la majorité de ces mâles sont impitoyablement chassés et doivent chercher à s'établir ailleurs.

Le comportement des femelles contre d'autres femelles est dans ses grandes lignes identique à celui des mâles, toutefois beaucoup plus discret. Je les ai observées aux mêmes époques que les mâles sur les futurs lieux de nidification, dès décembre.

J'illustrerai ce qui précède par un exemple, en rappelant qu'un cas précis de conquête du territoire a déjà été décrit dans le premier chapitre, à la page 824.

Pendant la période de mue 1961, le ♂ 3651 disparaît de son territoire situé en C4. Durant l'automne suivant, je n'observe que peu de Merles sur ce secteur, constitué par de grands résineux qui rendent l'observation difficile, et fort maigre en ressources alimentaires à cette période de l'année. Le 21 décembre 1961, je répands sur le sol un peu de nourriture et pose 3 trappes. Le même jour, je capture une femelle dans sa deuxième année, non baguée, (♀ 4661), qui nichera au printemps suivant 25 m à l'ouest du point de piégeage. Elle prend ainsi la place d'une femelle qui, depuis le 26 novembre, est observée 100 m au nord, en B7, où elle aussi nichera au printemps suivant. Ces deux femelles sont donc déjà sur leurs futurs

lieux de nidification (l'une même depuis un mois). Deux jours plus tard, soit le 23 décembre, je fais 3 captures: 1) la ♀ 4661 du 21 décembre, 2) un jeune mâle non bagué (♂ 4841), qui nichera sur les lieux de capture en 1962, succédant ainsi au ♂ 3651, 3) une femelle, adulte, non baguée (♀ 4681), qui elle nichera 100 m à l'est, dans le bosquet central d'Imede. Je continue à piéger dans le secteur et du 21 décembre 1961 au 8 janvier 1962, je bague 12 nouveaux mâles et 5 femelles. Plusieurs d'entre eux sont souvent repris: le ♂ 4841 et la ♀ 4681 cinq fois, les ♀♀ 4661 et 4831 chacune quatre fois. Les 3 premiers Merles sont les futurs nicheurs, quant à la ♀ 4831, son secteur de nidification m'est inconnu. Les autres mâles et femelles n'ont été capturés qu'une ou deux fois, excepté un jeune mâle qui a été pris trois fois.

Cet exemple de piégeage systématique à un endroit déterminé appelle quelques remarques. Nous constatons d'abord que les premiers individus capturés ont été les futurs nicheurs de la région. Cela signifie qu'ils occupent déjà les territoires laissés libres par le départ d'un mâle ou d'une femelle. Il est ensuite significatif que ces individus ont été capturés un plus grand nombre de fois que les autres Merles, dont aucun n'a niché à Imede au printemps suivant.

Ces observations, associées à d'autres, montrent que la majorité des futurs nouveaux nicheurs occupent déjà leurs futurs territoires en hiver. Les contrôles permettent de dire qu'ils y sont déjà attachés, ce qui n'exclut évidemment pas des déplacements hors du territoire, souvent à des distances importantes. C'est ainsi que le ♂ 4841 cité plus haut a été régulièrement observé au début de mars 1962 à 500 m de son territoire.

Les jeunes Merles ne parviennent pas tous à obtenir un territoire. Ceux qui échouent, s'établissent ailleurs ou constituent la « réserve », dont nous étudierons le comportement plus tard.

### 3. LA DÉFENSE TERRITORIALE

Le mâle défend son territoire contre les intrus par des combats et des parades d'intimidation. Les combats naissent soit entre mâles voisins, soit entre le résident et un nouveau venu qui cherche à s'établir. J'ai observé les bagarres entre mâles voisins surtout au mois de mars, au moment où les limites territoriales sont à nouveau

précisées. Les mâles en présence se battent souvent violemment, mais le combat se termine généralement sur les positions initiales. Les frontières territoriales sont souvent identiques d'une année à l'autre lorsque les mêmes mâles sont en présence. Les combats

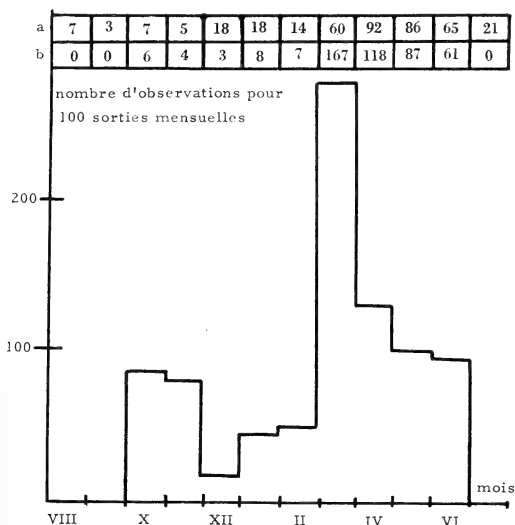


FIG. 7.

Comportement territorial des mâles pendant l'année;

a: nombre de sorties mensuelles;

b: nombre d'observations.

observés dans le courant de la période de reproduction concernant souvent des mâles de la réserve et ces bagarres se terminent alors toujours par la fuite de l'intrus, poursuivi par le résident sur des distances quelquefois importantes, 100 à 200 m.

Les parades d'intimidation ont lieu à terre et sont remarquablement stéréotypées. Elles concernent en principe des mâles voisins, chez lesquels l'agressivité défensive est momentanément diminuée. Les deux individus se poursuivent en trotinant, généralement sur un cercle ou en avançant et reculant alternativement. Ces parades d'intimidation peuvent durer plusieurs minutes, les deux mâles prenant tour à tour un léger avantage territorial et se terminent souvent sans qu'un véritable combat ait été engagé.

Le chant ne contribue pas directement à la défense du territoire, mais permet au mâle de signaler sa présence. Aucune de mes observations de mâle chantant ne concerne le chant de l'aube ou du crépuscule. Elles ont au contraire toutes été effectuées de jour. Les oiseaux qu'on entend le plus régulièrement pendant la saison, sont de jeunes mâles, célibataires. J'en ai observé chaque année un individu, sur un total de 27 couples.

J'ai centré mon étude de la défense du territoire sur la variation de l'intensité de la territorialité. Examinons le comportement territorial en fonction de l'année. Dans les figures 7 et 8 ont été reportés en ordonnées les combats, poursuites et parades d'intimidation. Les résultats d'août à novembre sont à interpréter avec prudence, parce que basés sur un nombre relativement faible d'observations. Nous pouvons néanmoins en déduire que l'agressivité défensive des femelles pendant cette période est pratiquement nulle, alors que chez les mâles, il y a dans les mois d'octobre-novembre une territorialité certaine. Une deuxième remarque qui se dégage instantanément de la comparaison de ces deux graphiques concerne les maximums. Nous voyons que chez les deux sexes la combativité est la plus prononcée en mars. Pendant ce mois, les mâles et les femelles sont extrêmement agressifs, les femelles toutefois moins que les mâles. En réalité, la différence dans le comportement des deux sexes est encore plus grande que ne le suggèrent les courbes de ces deux figures, parce que à nombre de combats égaux, ceux entre mâles sont généralement plus intenses et durent plus longtemps que ceux entre femelles.

Alors que dès fin mars on assiste à une diminution très brusque de la territorialité chez les femelles (voir fig. 10) les mâles, eux, demeurent proportionnellement beaucoup plus actifs. Leur agressivité défensive diminue cependant également d'avril à juin (voir fig. 9), puis dès le début de juillet, toute territorialité a disparu. Cela signifie que les territoires ne sont plus défendus et que n'importe quel Merle peut se déplacer n'importe où sans se faire chasser.

L'un des éléments de la figure 9 donne un reflet détaillé de l'agressivité défensive. L'autre montre que le mâle chante toujours plus au fur et à mesure que la saison de reproduction avance. Autrement dit, tandis que l'agressivité territoriale diminue, l'activité vocale augmente. Ces deux composantes du comportement varient donc inversement l'une avec l'autre.

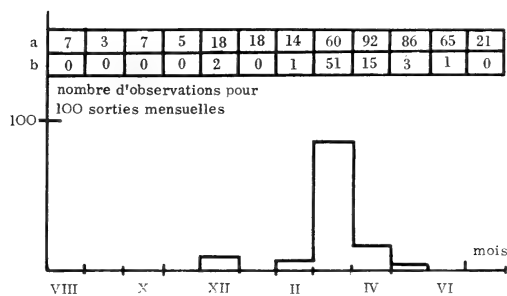


FIG. 8.

Comportement territorial des femelles pendant l'année;

a: nombre de sorties mensuelles;

b: nombre d'observations.

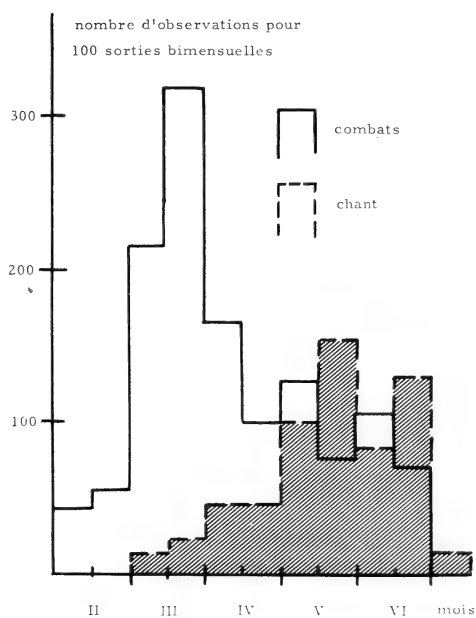


FIG. 9.

Comportement territorial des mâles au printemps.

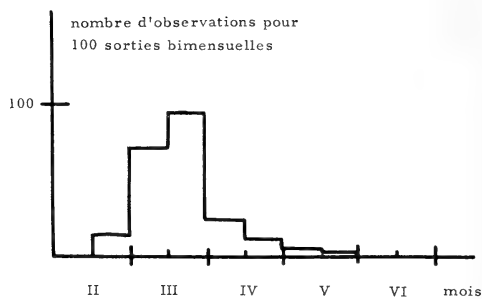


FIG. 10.

Comportement territorial des femelles au printemps.

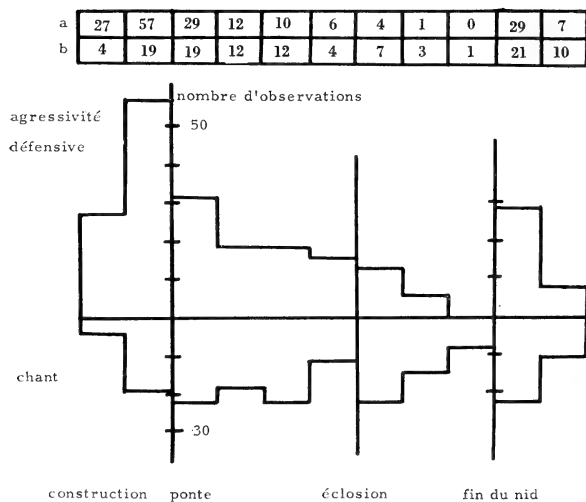


FIG. 11.

Variation de l'agressivité défensive et du chant en fonction de la nidification. Les observations sont groupées par périodes de 4 jours. Dans le graphique, il a été tenu compte de la diminution du nombre des nids pendant la nidification.

a: nombre d'observations concernant l'agressivité défensive.

b: nombre d'observations se rapportant au chant.

J'étudierai maintenant les variations de l'agressivité défensive et du chant en fonction du déroulement de la nidification. Le résultat de ce travail est résumé dans la figure 11. On voit que c'est dans les jours précédant la ponte que les mâles sont le plus agressifs. C'est également pendant cette période que les combats sont le plus violents. Puis, dès que la femelle a pondu les premiers œufs, l'agressivité du mâle s'affaiblit sensiblement. Pendant l'incubation, le mâle manifeste encore une certaine agressivité défensive, mais au fur et à mesure que les jeunes grandissent en réclamant par conséquent davantage à manger, cette agressivité s'affaiblit considérablement pour devenir nulle dans les jours précédant l'envol. Si l'évolution du nid est interrompue pour une raison ou pour une autre, on assiste dans les jours qui suivent l'échec, à une renaissance très importante de la territorialité. Quant au chant, cette même figure 11 montre que son intensité paraît indépendante de l'état de la nidification, jusqu'au nourrissage des jeunes, où le mâle chante de moins en moins. Mais dès que les jeunes se sont envolés ou que la couvée a été détruite ou abandonnée, le mâle chante à nouveau davantage.

Pour résumer, je constate donc une variation saisonnière dans la territorialité. Mais à ce cycle annuel se superpose au printemps une deuxième série de cycles, correspondant aux différentes tentatives de nidification. Chacun de ces deuxièmes cycles débute avec la construction du nid et se termine avec la réussite, la destruction ou l'abandon de la couvée. Sa durée est mensuelle, lorsque la couvée vient à bien, mais nettement raccourcie, quand le nid est abandonné ou détruit. Dans ce deuxième cycle, les variations de l'agressivité défensive sont très appréciables, alors que celles concernant le chant le sont nettement moins.

#### 4. LA FIDÉLITÉ AU TERRITOIRE

Parmi les Merles se reproduisant à Imede, certains nichent année après année sur le même territoire, alors que d'autres changent occasionnellement ou régulièrement de secteur. Je ne puis étudier ici que les déplacements de faible amplitude, puisque les oiseaux qui quittent le parc pour nicher dans un autre quartier de la ville échappent à mon contrôle.

Dans le tableau 1 figurent les observations de tous les Merles bagués ayant niché au moins 2 printemps sur le terrain étudié

ou ses environs. Nous constatons chez les mâles 31 cas de fidélité au territoire et 14 changements. Chez les femelles, la proportion est différente, puisqu'à 15 cas de fidélité correspondent 15 cas de

TABLEAU 1.  
*Fidélité au territoire d'un printemps à l'autre.*

Mâles			Femelles		
Age	Fidélité	Changement	Age	Fidélité	Changement
« Adultes » .	23	11	« Adultes » . .	11	9
1 an . . . . .	8	3	1 an . . . . .	4	6
Total . . . . .	31	14	Total . . . . .	15	15

changements. Les mâles sont donc davantage attachés à leur territoire que les femelles. La distance séparant l'ancien territoire du nouveau oscille entre 25 et 150 m, mais est de l'ordre de 50 m dans la majorité des cas observés, les valeurs concernant aussi bien les mâles que les femelles.

La figure 12 situe ces divers changements de territoire, et montre qu'ils ont pratiquement tous lieu dans la partie ouest, nord-ouest du parc. Or, c'est dans cette région que la population est la plus dense et c'est là que les territoires sont les plus petits (voir fig. 6). Il existe donc vraisemblablement une relation de cause à effet entre la forte concentration des couples et une fidélité plus faible au territoire. Partout ailleurs, les territoires sont sensiblement plus vastes et un seul changement y a été observé.

Ces déplacements annuels n'ont jamais concerné le couple, c'est-à-dire que les partenaires n'ont jamais été les mêmes avant et après le changement. Il en va différemment pour les translations de territoire en cours de saison de reproduction, caractérisées par le fait que les deux conjoints se déplacent ensemble et que l'unité du couple est maintenue. J'ai observé 7 cas précis, mais il y en a eu peut-être davantage. Deux se sont produits en mai et cinq en juin, c'est-à-dire à un moment où la territorialité est sensiblement diminuée. Les nouveaux secteurs sur lesquels se sont établis ces



7 couples pour nicher sont les suivants: dans 5 cas, ils ont pris possession d'une portion quelque peu abandonnée d'un territoire occupé; dans le sixième cas, il s'agit d'un territoire devenu vacant par le départ du couple résident (donc phénomène de substitution) et dans le septième, un terrain « neutre » formé par un groupe de

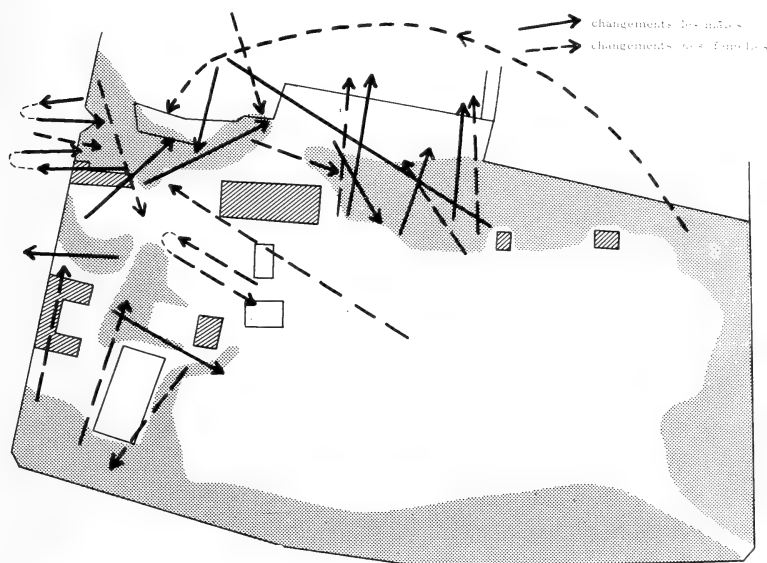


FIG. 12.  
Changements annuels de territoires.

jeunes tilleuls dans lesquels le couples a construit son nid. L'amplitude de ces déplacements a été comme précédemment de l'ordre de 50 mètres.

Je n'ai aucune idée du facteur qui détermine ces changements de territoire, surtout observés en fin de saison. Si c'était à la suite d'échecs que les couples partaient, c'est presque toute la population d'Imede qui devrait quitter ses territoires pour s'établir ailleurs, puisque chaque couple subit chaque printemps plusieurs échecs dans l'élevage de ses couvées. J'inclinerais plutôt à penser que ces changements intervenant pendant la période de nidification sont en rapport avec la forte densité des oiseaux, vu que 6 de ces modifications se sont manifestées dans la même région que les changements de territoire annuels.

## 5. LA RÉSERVE DE POPULATION

Certains Merles ne peuvent conquérir au printemps un territoire. Ils cherchent alors à s'établir ailleurs, se contentant même de secteurs peu propices à la nidification; cette dernière remarque étant en tous les cas valable pour les mâles. Mais beaucoup d'entre eux rencontrent partout des oppositions farouches de la part des résidents, et, ne trouvant aucun territoire, forment un groupe d'individus que l'on appelle la réserve de population. Il s'agit d'oiseaux qui pendant les mois du printemps, se déplacent d'un endroit à un autre, attendant l'occasion de s'établir. Cette occasion peut se présenter lorsqu'un nicheur du même sexe meurt. La réserve comprend en effet des mâles et des femelles, les premiers paraissant plus nombreux. Il convient cependant d'être prudent dans l'appréciation du rapport des sexes, car les mâles sont un peu plus visibles que les femelles, et ont surtout un comportement beaucoup plus combatif, se faisant par conséquent plus facilement remarquer.

La réserve se constitue petit à petit à partir de fin mars, au fur et à mesure que les oiseaux ayant échoué dans leurs tentatives de conquêtes territoriales commencent à vagabonder. Mais à cette époque, l'identification des individus de la réserve est très difficile, voire impossible, pour les deux raisons suivantes. Il y a d'abord le passage des Merles migrateurs sur le territoire des nicheurs, et ensuite le fait que les domaines vitaux de tous les couples chevauchent plus ou moins. Alors que la première difficulté disparaît dès mi-avril, la deuxième subsiste pendant toute la période de nidification. Le problème qui se pose à l'observateur est donc le suivant: comment savoir si un mâle observé sur le territoire d'un couple connu est un individu de la réserve ou simplement un mâle qui cherche de la nourriture et se trouve par conséquent sur son domaine vital. J'ai résolu le problème de la manière suivante: lorsque l'intrus manifeste une certaine agressivité vis-à-vis du résident, il appartient à la réserve (il est bien entendu qu'il faut avoir la certitude qu'il ne s'agit pas d'un mâle nichant dans les environs). Lorsqu'il est simplement posé, sans comportement particulier, je ne me suis généralement pas prononcé.

C'est en 1960 et en 1962 que j'ai recueilli le plus grand nombre de renseignements. Pendant le printemps 1960, j'ai identifié 6 mâles

et 3 femelles; en 1962, 7 mâles et 2 femelles de la réserve. Voici quelques cas concrets.

Le premier concerne le mâle 3641, qui a été capturé et bagué le 14 mars 1959 en B8<sub>3</sub>, sur son territoire, où il a niché avec une femelle non baguée. Il est observé toute l'année sur son territoire, mais au printemps 1960, c'est le ♂ 3681 qui a pris sa place. Le ♂ 3641 commence, dès le 19 mars, à errer sur 6 ou 7 territoires d'Imede, mais il est principalement observé en C8. En fin de saison, il déplace quelque peu son aire d'activité, et je le rencontre surtout en D6. Il ne faut cependant pas oublier qu'il est probable que ce ♂ 3641 a vécu dans un domaine vital plus grand, comprenant vraisemblablement les environs du parc. La figure 13 montre que ce célibataire errant a été dominé, surtout par le mâle non bagué de C9, mais qu'il a aussi été dominant, combattant et pourchassant victorieusement des mâles nicheurs. Il a eu en outre des postes de chant. La saison de reproduction terminée, je l'ai observé le 8 octobre en B6, le 26 décembre en C9, et le 7 janvier 1961 en D8. J'apprenais au printemps 1961, qu'il avait été trouvé mort au début d'avril dans le parc Mon-Repos, soit à 2 km au N.-E. d'Imede, en pleine ville.

Cependant, certains mâles de la réserve ont la « chance » d'être présents au bon endroit au bon moment. Ce fut le cas pour le ♂ 3842, bagué le 12 mars en D4 âgé d'un an, qui remplaça le 8 avril suivant le ♂ 3531, vraisemblablement décédé la veille (voir aussi chapitre 1, p. 824). J'ai entendu chanter ce mâle 4 jours plus tôt 10 m à l'ouest du territoire du 3531, ce qui prouve qu'au début d'avril il vivait déjà dans cette région.

Il existe pour les mâles de la réserve encore une autre possibilité de s'établir. L'agressivité défensive des nicheurs devenant nulle à fin juin, début juillet, il peut arriver qu'un mâle s'établisse à cette époque, où il ne rencontre plus guère d'opposition, et, s'appariant, puisse même se reproduire. C'est ce que j'ai observé en 1960, à la jonction de trois territoires (G7<sub>8</sub>). Le 3 juin, je vois pour la première fois à cet endroit un mâle non bagué; le 17 juin, il chante et pourchasse un autre mâle. Même constatation les 21 et 22 juin, puis, le 24, je découvre en G7<sub>11</sub> un nid en construction, placé à 15 mètres de hauteur, qui sera par la suite détruit, vraisemblablement sans avoir contenu des œufs.

Les observations concernant les femelles de la réserve de population sont moins nombreuses et plus fragmentaires. Je ne citerai

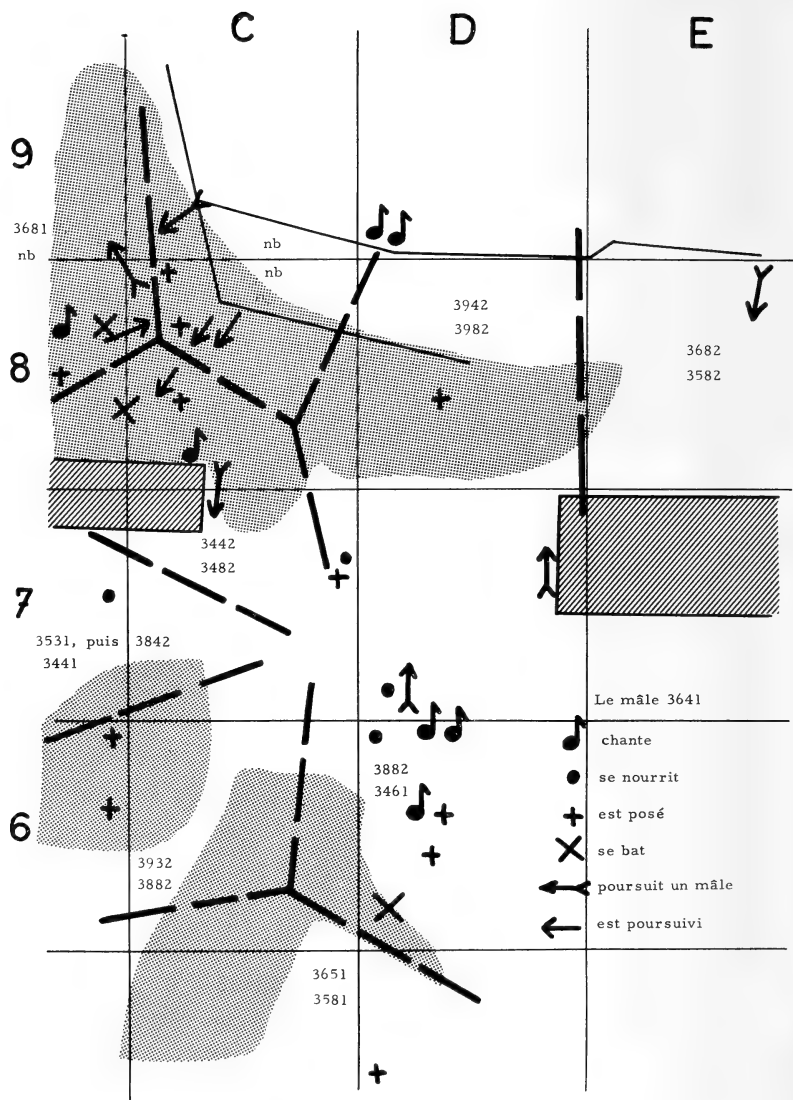


FIG. 13.

Observations se rapportant au mâle 3641 de mars à juin 1960;  
nb: individus nicheurs non bagués.

ici que les deux faits suivants : le 29 avril 1960, j'observe sur un mur une femelle non baguée, étrangère à Imede, qui soudain se précipite sur une femelle couvant à 5 mètres de hauteur. Ce dernier oiseau, d'abord dominé, chasse ensuite l'attaquante et continue par la suite à couvrir. La deuxième observation concerne un remplacement de femelle. Le 18 avril, à 10 h. 15, la ♀ 3531 se nourrit en G7<sub>11</sub>; une heure plus tard, j'observe au même endroit la ♀ 3451, baguée un an plus tôt en B6 et plus jamais revue depuis. A partir de ce 18 avril, je ne vois plus que la deuxième femelle, appariée, comme la première, au ♂ 3881. La ♀ 3531 a vraisemblablement dû disparaître dans la journée ou les jours qui suivirent. Inversement, la ♀ 3451 a probablement visité ce territoire avant le 18 avril, mais m'a échappé. Ce deuxième exemple met en évidence la rapidité avec laquelle la ♀ 3531 a été remplacée par une femelle de la réserve.

La réserve comprend donc un nombre non négligeable d'individus par rapport aux couples nicheurs, puisque ce sont au total 18 oiseaux qui ont été observés en 2 ans. Il n'est par conséquent pas surprenant de constater que les résidents qui meurent soient rapidement remplacés. Ces Merles non établis ont un comportement variable, pouvant aussi bien passer longuement inaperçus que manifester une agressivité considérable.

## 6. DISCUSSION

Le développement de la territorialité en automne, en rapport avec une variation de l'activité glandulaire de l'oiseau (SNOW 1955a), est connu depuis longtemps et chez de nombreux Passereaux tels que les Mésanges *Parus sp* (KLJVER, 1951; GIBB, 1962), le Rouge-gorge *Erithacus rubecula* (LACK, 1943 b). A cette époque, beaucoup de jeunes Merles s'établissent, mais JACKSON (1954) et SNOW (1958b) constatent qu'ils abandonnent généralement ces territoires hivernaux avant le printemps. Cela ne coïncide pas avec mes observations, qui ont au contraire montré que la majorité des jeunes établis pendant l'hiver sur un secteur donné, le conquièrent au printemps suivant. J'ai en outre l'impression, rejoignant les idées de LIND (1955) que dans de nombreux cas, la formation du couple est liée à ces " territoires " hivernaux.

Les observations se rapportant aux variations de l'agressivité défensive confirment pleinement les résultats de SNOW (1958b) et

de nombreux autres auteurs, excepté STEINBACHER (1941). Ce dernier constate un comportement territorial intense, mais confus, avant la saison de nidification. Puis, pendant la période de reproduction, toute territorialité semble avoir disparu. Il est dommage que les données de Steinbacher soient peu nombreuses.

MOFFAT, en 1903, écrivait déjà que la fonction principale et primaire du chant, chez les oiseaux, est de signaler la présence d'un mâle et non d'attirer la femelle. Cette affirmation s'applique parfaitement au Merle, chez lequel les couples sont formés plusieurs semaines ou plusieurs mois avant les premiers chants. LACK et LIGHT (1941) doutent cependant de l'importance de cette fonction signalisatrice, alors que SNOW l'admet pour le début de la période de nidification. Je pense que le chant conserve cette fonction même en juin-juillet, puisque c'est à ce moment que certains mâles de la réserve cherchent à s'établir.

L'importance de la réserve de population a déjà été constatée par ALTUM (1868), mais elle a été mise en évidence de manière spectaculaire par STEWART et ALDRICH (1951) chez des espèces néarctiques. Il est intéressant de relever que la réserve d'oiseaux mâles paraît plus importante que celle des femelles; on en trouvera une confirmation au chapitre VI.

La surface du territoire a été mesurée chez le Merle par SNOW (1958b): 20 a., LIND (1955): 18 a., JACKSON (1954): 40 a., EPPRECHT (1946): 50 a. Ces dimensions concernent toutes des territoires urbains, les territoires ruraux et forestiers étant généralement sensiblement plus grands. Les nombres cités plus haut montrent clairement l'extrême exiguïté des territoires d'Imede mesurant en moyenne 14 a.

Il est intéressant de constater que les territoires du nord-ouest dans le parc étudié sont tous particulièrement petits: 6-8 a., alors que ceux du sud sont sensiblement plus grands: 20-30 a. Cette différence de surface peut être mise en parallèle avec les considérations suivantes. La région nord-ouest a une végétation très variée (voir fig. 4) formée de grands arbres et de nombreux buissons d'essences diverses, offrant d'une part d'abondants couverts et d'autre part de multiples emplacements de nidification. Les ressources alimentaires sont excellentes, car en plus de la nourriture « naturelle », les oiseaux disposent de plusieurs composts, plates-bandes et arbres fruitiers. La région sud a des caractéristiques

différentes (voir fig. 3). Les petits buissons sont rares, c'est-à-dire qu'entre le sol et 2 mètres de hauteur il n'y a pas de végétation, alors que dans le secteur précédent, le champ visuel est partout arrêté par des buis, laurèlles etc. La nourriture est purement « naturelle ».

Cette comparaison permet les conclusions suivantes. Le territoire du Merle doit contenir des emplacements de nidification et une certaine quantité de végétation buissonnante. Cette dernière offre au Merle des couverts qui lui permettent d'échapper à la vue et également de se nourrir. L'oiseau pâture aussi sur des terrains découverts, pelouses, prés, mais d'après mes observations, surtout à l'aube et au crépuscule. Pendant la journée, c'est plutôt parmi les feuilles mortes et dans les endroits ombragés qu'il recherche à manger. Le territoire ou ses environs immédiats doit donc fournir au Merle une certaine fraction de sa nourriture. Enfin, si les territoires du nord-ouest sont si restreints, c'est également à cause des grands arbres qui s'y trouvent. Le Merle consacre certains moments de la journée à la toilette, au repos, ceci sur son territoire, sans être dérangé. Il doit donc disposer d'endroits abrités et comme il vit dans un espace à trois dimensions, il lui faut un certain volume minimum de végétation. Si les arbres du nord-ouest ne dépassaient pas 4 ou 5 mètres, les territoires seraient certainement plus grands.

### CHAPITRE III

#### LA NIDIFICATION

##### 1. EMBLACEMENT DU NID

Les Merles qui recherchent un emplacement pour le nid ont un comportement particulier que j'ai eu l'occasion d'observer à 29 reprises, chez 22 couples. Le plus souvent, l'oiseau monte dans les branches de l'arbre, inclinant sa tête à droite et à gauche en donnant l'impression de chercher quelque chose. Pendant ces déplacements, toujours de bas en haut, le Merle s'arrête dans certaines enfourchures. Il s'y accroupit, puis continue de monter. Mais dans certaines bifurcations, il s'attarde et, accroupi, tourne en rond sur lui-même, comme lors de la construction du nid.

Cette attitude a été observée dans les 5 cas où l'emplacement du nid coïncidait avec l'un des sites visités.

L'un des couples (♂ 3551, ♀ 3523) manifesta une prédilection pour les maisons: le 20 mai 1961, le couple explore volets, balcons et cheneaux, mais le nid sera construit sur un hêtre. Le 21 mars 1962, la même femelle visite les mêmes lieux, se « nichant » entre autres sur le sommet du volet K9<sub>2</sub>. Mais là encore, le nid est construit ailleurs: sur un épicéa. Le 10 avril, même manège, mais cette fois le nid est établi sur le volet K9<sub>2</sub>. Ce nid abritera 2 nichées successives.

Je relève ici encore deux observations particulières: le 29 mars 1960, la ♀ 3462 commence la construction d'un nid (G2<sub>11</sub>) au sommet d'un thuya. Pendant qu'elle porte des brindilles au nid, elle cherche visiblement un autre emplacement de nidification, et ceci, non seulement dans le thuya, mais également dans les arbres environnants. Le lendemain, ce comportement curieux a cessé et le nid est extérieurement presque fini. La deuxième observation concerne la ♀ 4361. Cette dernière vole sur place devant un mur le 23 mars 1961. Elle tient dans son bec des brindilles et inspecte les trous du mur. J'ai l'impression que la construction du nid est commencée, mais il n'en est rien. Le lendemain cette femelle cherche un emplacement pour nicher dans un autre secteur, où elle construit un nid le 3 avril.

Les deux sexes participent inégalement à ce travail de prospection et les 29 observations peuvent se répartir de la manière suivante:

- Dans 21 cas, la femelle a recherché seule l'emplacement du nid. Dans 17 de ces cas, le mâle s'est totalement désintéressé de l'activité de la femelle (ayant été inactif ou invisible) et dans 4 cas, il a suivi cette dernière, mais sans toutefois participer à l'exploration.
- Dans 3 cas, c'est le mâle qui a prospecté seul les arbres, la femelle n'ayant pris aucune part active à ce travail.
- Dans 5 cas, les deux conjoints ont recherché ensemble un site approprié pour nicher. Dans un cas, c'est le mâle qui a dirigé les opérations, dans 2 cas, c'est au contraire la femelle; et enfin dans les deux derniers cas, aucun des deux partenaires n'a été dominant sur l'autre.



La femelle prend donc une part nettement prépondérante dans la recherche d'un emplacement de nidification.

Etudiées en fonction de la saison de reproduction, les 29 observations se répartissent ainsi: 22 observations en mars-avril et 7 observations en mai-juin. Etant donné que j'ai observé autant en mai-juin qu'en mars-avril, j'en déduis qu'un couple de Merles consacre davantage de temps à la recherche d'un emplacement pour nicher au début du printemps qu'au milieu ou en fin de saison.

Dans certains cas, c'est l'ancien nid qui est réutilisé pour nicher. Ainsi, sur 301 nids directement observés, 8 ont abrité une deuxième ponte; ce qui représente 3% et un neuvième a même reçu 3 pontes successives. Lorsque la femelle s'apprête à déposer sa deuxième ponte dans le même nid, elle aménage quelque peu ce dernier, en y déposant du matériel frais. L'issue de ces divers nids est indiquée dans le tableau 2.

TABLEAU 2.

*Issue des nids utilisés plus d'une fois pendant la même saison.*

1 <sup>re</sup> ponte		Issue	2 <sup>e</sup> ponte		Issue	3 <sup>e</sup> ponte	Issue
M6 <sub>1</sub>	1959	Prédation	M6' <sub>1</sub>	1959	Prédation		
L6 <sub>13</sub>	1959	Réussi	L6' <sub>13</sub>	1959	Jeunes aband.		
F7 <sub>12</sub>	1959	Oeufs aband.	F7' <sub>12</sub>	1959	Réussi		
E6 <sub>1</sub>	1959	Oeufs aband.	E6' <sub>1</sub>	1959	Réussi		
G10 <sub>16</sub>	1961	Réussi	G10' <sub>16</sub>	1961	Prédation		
B9 <sub>15</sub>	1962	Prédation	B9' <sub>15</sub>	1962	Prédation		
K9 <sub>2</sub>	1962	Réussi	K9' <sub>2</sub>	1962	Réussi		
D6 <sub>14</sub>	1962	Prédation	D6' <sub>14</sub>	1962	Prédation		
N5 <sub>6</sub>	1962	Prédation	N5' <sub>6</sub>	1962	Prédation	N5'' <sub>6</sub>	Prédation

Dans les nids B9<sub>15</sub> et B9'<sub>15</sub>, les œufs ont été pondus par deux femelles différentes associées au même mâle.

Un dixième cas, bien singulier, a été observé. Le 25 juin 1962, la nichée F8''<sub>12</sub> de la ♀ 3932 a été détruite par un Rongeur. Or, le 6 juillet, cette femelle couve dans le nid F8<sub>3</sub> que j'ai découvert le 12 juin. A cette date, ce dernier avait été abandonné en cours de construction et la femelle couvait dans le nid F8''<sub>12</sub>. La ♀ 3932 a donc entrepris la construction du nid F8<sub>3</sub> qu'elle a rapidement abandonné. Elle a ensuite niché en F8''<sub>12</sub>, où les jeunes ont été détruits le 25 juin. A la suite de cet échec, cette femelle a terminé son ancien nid F8<sub>3</sub> et y a déposé une nouvelle ponte.

Il ressort de ces exemples que la réutilisation d'un nid ne dépend pas de l'issue de la première ponte.

Le nid le plus bas a été construit contre une souche de robinier, à 30 cm. du sol; alors que le nid le plus élevé se trouvait sur une

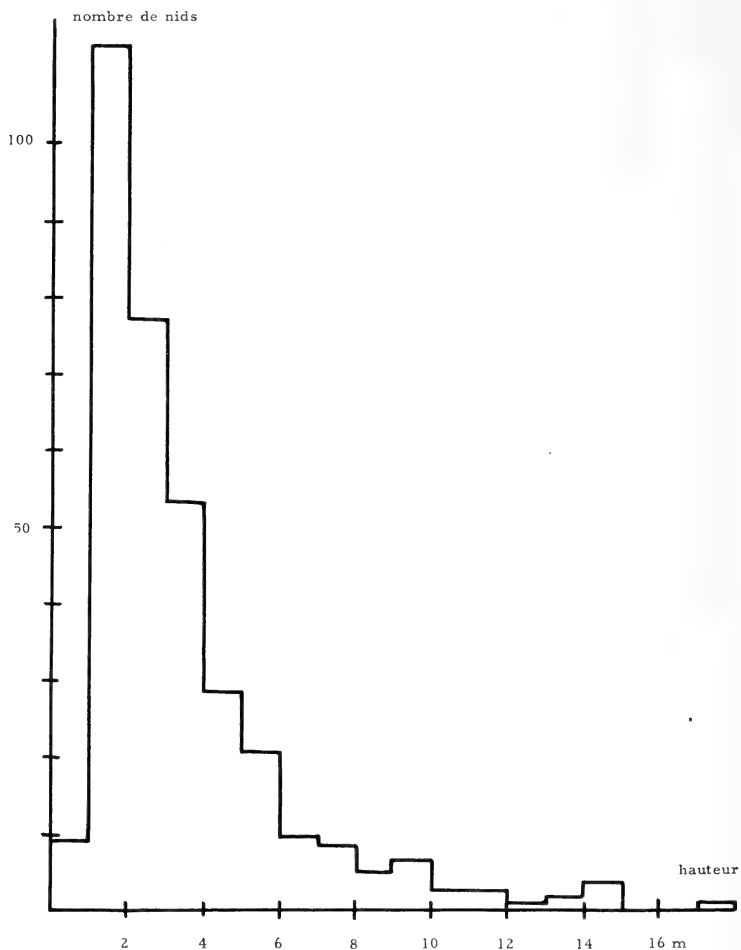


FIG. 14.

Répartition des nids en fonction de la hauteur.

branche horizontale d'épicéa, à 18 m. de hauteur. La figure 14 montre la répartition de tous les nids et fait clairement ressortir que plus de la moitié se trouvent construits entre 1 et 3 m. Cette

constatation est valable aussi bien pour la période mars-avril que pour mai-juin (voir tableau 3). Le Merle a donc tendance à nicher bas, même si les grands feuillus lui offrent en juin de nombreuses autres possibilités.

TABLEAU 3.

*Répartition de la hauteur des nids en mars-avril et mai-juin.*

Hauteur	Nombre de nids		Total
	en mars-avril	en mai-juin	
0 - 1 m	5	4	9
1,1- 2 m	62	52	114
2,1- 3 m	38	40	78
3,1- 4 m	24	30	54
4,1- 5 m	10	19	29
5,1- 6 m	14	7	21
6,1- 7 m	3	7	10
7,1- 8 m	2	6	8
8,1- 9 m	1	1	2
9,1-10 m	4	4	8
10,1-11 m	1	2	3
11,1-12 m	1	2	3
12,1-13 m	0	1	1
13,1-14 m	1	1	2
14,1-15 m	2	2	4
18 m	1	0	1
Total:	169	178	347
Moyenne:	3,8 m	4,1 m	

Plus de 30 espèces végétales ont été utilisées, dont voici la liste par ordre d'importance.

*Espèces à feuilles persistantes*

	Total	mars-avril	mai-juin
Épicéa ( <i>Picea abies</i> ) . . . . .	53	37	16
Lierre ( <i>Hedera helix</i> ) . . . . .	37	27	10
Buis ( <i>Buxus sempervirens</i> ) . . . . .	23	15	8
Houx ( <i>Ilex aquifolium</i> ) . . . . .	22	12	10
Thuya ( <i>Thuya orientalis</i> et <i>Chamaecyparis obtusa</i> ) . . . . .	18	12	6
If ( <i>Taxus baccata</i> ) . . . . .	12	9	3

*Espèces à feuilles persistantes*

	Total	mars-avril	mai-juin
Laurelle ( <i>Prunus laurocerasus</i> ) . .	10	6	4
Pins ( <i>Pinus sylvestris</i> et <i>P. griffithii</i> )	6	4	2
Chèvrefeuille luisant ( <i>Lonicera nitida</i> ) . . . . .	2	2	0
Conifère exotique . . . . .	1	0	1
Total des nids	<u>184</u>	124	60

*Espèces à feuilles caduques*

Charme ( <i>Carpinus betula</i> ) . . . .	28	3	25
Marronnier ( <i>Aesculus hippocastanum</i> ) . . . . .	19	4	15
Erable plane ( <i>Acer platanoides</i> ) . .	18	6	12
Tilleul ( <i>Tilia sp</i> ) . . . . .	12	2	10
Sureau noir ( <i>Sambucus nigra</i> ) . .	9	1	8
Ronce ( <i>Rubus ulmifolius</i> ) . . . .	8	1	7
Hêtre ( <i>Fagus silvatica</i> ) . . . . .	8	0	8
Kerria ( <i>Kerria japonica</i> ) . . . . .	7	3	4
Forsythia ( <i>Forsythia suspensa</i> ) . .	5	3	2
Orme ( <i>Ulmus glabra</i> ) . . . . .	5	0	5
Cytise ( <i>Laburnum sp</i> ) . . . . .	4	1	3
Peuplier ( <i>Populus sp</i> ) . . . . .	4	2	2
Vigne vierge ( <i>Parthenocissus quinquefolia</i> ) . . . . .	4	0	4
Frêne ( <i>Fraxinus excelsior</i> ) . . . .	3	0	3
Bouleau ( <i>Betula pendula</i> ) . . . .	3	1	2
Tulipier ( <i>Liriodendron tulipifera</i> ) .	2	0	2
Glycine ( <i>Wistaria sinensis</i> ) . . . .	2	0	2
Feuillu exotique . . . . .	2	1	1
Robinier ( <i>Robinia pseudacacia</i> ) . .	1	1	0
Mélèze ( <i>Larix decidua</i> ) . . . . .	1	1	0
Magnolia ( <i>Magnolia sp</i> ) . . . . .	1	0	1
Chêne ( <i>Quercus sp</i> ) . . . . .	1	0	1
Poirier ( <i>Pyrus communis</i> ) . . . . .	1	0	1
Lilas ( <i>Syringa vulgaris</i> ) . . . . .	1	0	1
Total des nids	<u>149</u>	30	119

En outre, certains nids ont été construits sur d'autres supports. C'est ainsi que 8 ont été édifiés contre des bâtiments (sur des volets, sous des balcons et sur des poutres), et un dans un trou de mur.

Comme on pouvait s'y attendre, à cause des meilleurs couverts, les Merles nichent principalement en mars-avril sur les Conifères

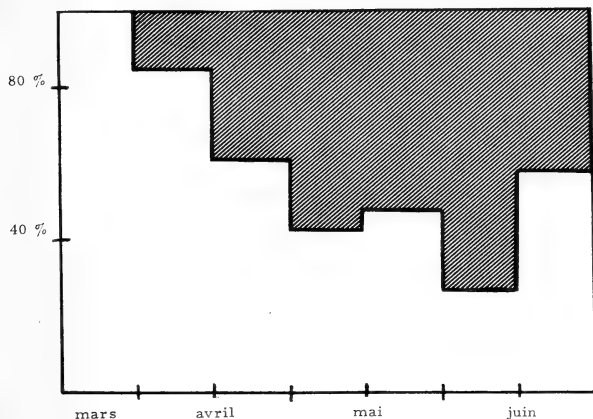


FIG. 15.

Répartition des nids sur les essences à feuilles persistantes (portion inférieure du graphique) et à feuilles caduques (portion supérieure).

Les nids sont classés en fonction de la date du premier œuf pondu.

(surtout l'épicéa). Mais ils utilisent aussi beaucoup le lierre qui recouvre les murs et les troncs. Par contre en mai-juin, ils fréquentent plutôt les feuillus, sans délaissier pour autant les essences à feuilles persistantes (voir fig. 15).

## 2. CONSTRUCTION DU NID

Le nid est construit uniquement par la femelle. Le mâle accompagne tout au plus la femelle pendant les nombreux déplacements que nécessite la construction. La durée de cette construction, est difficile à déterminer avec précision. En effet, si le début de l'édification d'un nid peut être constaté facilement, il n'en va pas de même pour la fin : lorsque le nid semble terminé, la femelle apporte encore souvent des radicelles ou autres matériaux, ceci toutefois de moins en moins fréquemment surtout pour le début de la période

de reproduction, moment où les nids sont construits le plus lentement. Un couple met en moyenne 8 jours pour construire son premier nid de la saison, les limites extrêmes observées étant: 4 et 14 jours. Le premier œuf est généralement pondu 3 jours après la fin de la construction du nid, les cas extrêmes étant: 0 et 8 jours (voir tableau 4). A partir de fin mai, la construction est accélérée et ne dure souvent que 2 à 4 jours, le premier œuf étant pondu sitôt le nid terminé.

TABLEAU 4.

*Caractéristiques concernant la construction et la ponte des premiers nids de la saison de reproduction.*

Début de la construction	Fin de la construction	Durée de la construction	1 <sup>er</sup> œuf	Intervalle: nid fini-1 <sup>er</sup> œuf	Durée: début construction-1 <sup>er</sup> œuf
15 mars	24 mars	9 jours	26 mars	2 jours	11 jours
20 »	26 »	6 »	29 »	3 »	9 »
	29 »		30 »	1 »	
21 »	29 »	8 »	1 avril	3 »	11 »
17 »	31 »	14 »	2 »	2 »	16 »
19 »	2 avril	14 »	2 »	0 »	14 »
26 »	1 »	6 »	3 »	2 »	8 »
26 »	2 »	7 »	4 »	2 »	9 »
26 »	3 »	8 »	4 »	1 »	9 »
29 »	2 »	4 »	5 »	3 »	7 »
	31 mars		6 »	6 »	
29 »	6 avril	8 »	7 »	1 »	9 »
25 »	30 mars	5 »	7 »	8 »	13 »
	2 avril		8 »	6 »	
25 »	7 »	13 »	9 »	2 »	15 »
30 »	5 »	6 »	9 »	4 »	10 »
	7 »		10 »	3 »	
28 »	7 »	10 »	10 »	3 »	13 »
4 avril	9 »	5 »	14 »	5 »	10 »
30 mars	8 »	9 »			
31 »	6 »	6 »			
Moyenne:		8,2 jours		3,0 jours	11,0 jours

L'intervalle de temps séparant la destruction, l'abandon ou la réussite d'une couvée et le premier œuf du nid suivant est une caractéristique intéressante à étudier. A cet effet, j'ai réparti tous ces « intervalles » en 3 groupes: ceux d'avril, de mai et de juin. Si par exemple un nid a été détruit le 27 mai et que le premier

œuf du nid suivant a été pondue le 5 juin, cet intervalle de 9 jours est classé avec ceux de juin. La valeur de cette variable est la suivante:

avril . . . . .	11 jours (moyenne de 31 cas)
mai . . . . .	10 » ( » de 31 » )
juin . . . . .	9 » ( » de 11 » )

Cette décroissance est faible et non assurée statistiquement. Cependant « l'accélération reproductrice » est nettement plus intense au vu des constatations suivantes: la proportion des nids abandonnés en début de saison est plus élevée que vers la fin (voir p. 868). Ainsi, sur les 31 « intervalles » d'avril, 21 succèdent à des nids abandonnés, alors que parmi les 11 « intervalles » de juin, aucun ne succède à un nid abandonné.

L'étude en fonction de l'issue du nid précédent a donné les résultats suivant:

Nid primitif abandonné avant la	
ponte . . . . .	intervalle 10,5 jours (11 nids)
Nid primitif abandonné avec des	
œufs . . . . .	» 11 » (17 » )
Couvée primitive détruite par pré-	
dation . . . . .	» 10 » (34 » )
Couvée primitive réussie . . . . .	» 7,5 » ( 5 » )

Que la couvée ait été abandonnée ou qu'elle ait été détruite par un prédateur, la femelle pond donc en moyenne 10 à 11 jours plus tard le premier œuf. Par contre, lorsque la couvée a réussi, la femelle semble nicher à nouveau avec plus d'empressement.

### 3. DE LA PONTE A L'ÉCLOSION

La femelle dépose généralement ses œufs à un jour d'intervalle, que la ponte complète comporte 2 ou 5 œufs. J'ai observé une seule exception, relative à une ponte de remplacement en 1959: les 3 œufs du nid E6<sub>1</sub> ont été pondus entre le 19 et le 23 mai, soit à 2 jours les uns des autres. Le 22 au matin, les deux premiers étaient relativement froids, mais la femelle avait dû passer la nuit sur le nid.

Pendant la période de ponte, la femelle couve (?) de plus en plus assidûment et l'incubation ne commence véritablement qu'à

partir du dernier ou de l'avant-dernier œuf. L'incubation ne commence donc pas à un moment précis. Pour la détermination de sa durée, j'ai admis que l'oiseau couvait depuis la ponte de l'avant-dernier œuf. Sa durée oscille entre 12 et 14 jours, avec une moyenne de 12,7 jours (15 déterminations précises). Ce nombre est un minimum et ne tient pas compte des moments passés par la femelle sur le nid pendant la ponte. Le mâle ne couve pas, mais je l'ai observé à 2 reprises sur le nid, alors que ce dernier contenait des œufs, les 11 juin 1959 et 14 juillet 1960. Il avait les pattes sur le rebord et la poitrine affaissée dans la coupe, vraisemblablement au contact des œufs. Je n'ai vu les deux mâles dans cette position que quelques secondes, mais je ne sais depuis combien de temps ils y étaient.

Le mâle et la femelle mènent une vie indépendante pendant la couvaison. La femelle quitte périodiquement le nid pour aller se nourrir et faire sa toilette. Dans certains cas, le conjoint la suit et l'accompagne dans ses déplacements, comme lorsqu'elle construit, mais moins régulièrement. A une exception près, le 8 juin 1959, je n'ai jamais vu le mâle nourrir la femelle sur le nid.

A l'incubation succède l'éclosion qui peut débiter aussi bien tôt le matin (6 h. 30) qu'en fin de journée (18 heures). Les jeunes ne naissent en général pas simultanément, mais un intervalle variant entre quelques heures et 2 jours sépare l'éclosion du premier de celle du dernier jeune. Voici 3 exemples :

1. Nid B3<sub>2</sub> 1960: ponte complète: 4 œufs, dont 2 inféconds.  
15 juin, 1715: 2 jeunes venant d'éclore, encore mouillés.
2. Nid F8<sub>12</sub> 1960: ponte complète: 4 œufs.  
9 juin, 1830: 3 œufs et 1 jeune de quelques heures.  
10 juin, 0700: 2 œufs et 2 jeunes.  
11 juin, 0615: 1 jeune en train d'éclore et 3 jeunes.
3. Nid F7<sub>12</sub>. 1959: ponte complète: 4 œufs.  
21 mai, 1715: 1 œuf et 3 jeunes de 2 jours.  
22 mai, 0630: 3 jeunes et le dernier-né mort.

Je n'ai jamais trouvé la moindre trace de coquille dans le nid, même lorsque les jeunes venaient de naître (15 observations). La femelle enlève donc les fragments immédiatement après la naissance, tout comme elle élimine les petits morts d'inanition.



## 4. NOMBRE D'OEUFs PAR PONTE

A Imede, la ponte du Merle oscille entre 2 et 5 œufs, mais en comprend normalement 3 ou 4. L'examen de 156 pontes complètes est résumé dans le tableau 5 qui conduit aux constatations suivantes: les pontes à 5 œufs sont très peu nombreuses, même moins abondantes que celles à 2 œufs; par contre, les pontes à 4 œufs sont très fréquentes, puisqu'elles représentent le 57% de l'ensemble. En outre, le nombre d'œufs des premières pontes de la saison est un peu plus faible que celui des autres pontes (comprenant 5 deuxièmes pontes et 99 pontes de remplacement).

TABLEAU 5.  
*Distribution des pontes complètes.*

Pontes à	Total		Premières pontes		Pontes de remplacement et deuxièmes pontes	
2 œufs	14	9,0%	4	7,7%	10	9,6%
3 œufs	43	27,6%	21	40,3%	22	21,1%
4 œufs	89	57,0%	22	42,3%	67	64,5%
5 œufs	10	6,4%	5	9,7%	5	4,8%
Nombre de pontes	156		52		104	
Ponte moyenne	3,61		3,54		3,65	

L'étude de la variation du nombre d'œufs par ponte présente dans cette population un grand intérêt. Je l'ai entreprise en fonction de l'époque de reproduction, de l'âge des femelles et d'autres caractères individuels.

Le tableau 6 montre la répartition des pontes pendant le printemps des années 1959-1962. Je dois préciser que le nombre de ces pontes est un peu inférieur à la réalité dès le mois de juin, car en 1961, j'ai dû arrêter les observations à cette date. Seuls les résultats du 1<sup>er</sup> avril au 15 juin peuvent être comparés et ce sont partout les moyennes mensuelles de 3,55; 3,68; 3,58 qui doivent retenir notre attention. Les différences entre ces nombres sont si faibles qu'elles ne permettent pas de conclure à une variation du

nombre d'œufs par ponte en fonction de la saison. Au contraire, elles suggèrent plutôt qu'il n'y a pas de variation.

TABLEAU 6.  
*Répartition des pontes complètes en fonction de la saison.*

Période	Nombre d'œufs/ponte				Pontes	Oeufs	Moy.	Totaux mensuels		
	2	3	4	5				pon- tes	œufs	moy.
1-15 mars			1		1	4	4,00	5	19	3,80
16-31 mars		1	3		4	15	3,75			
1-15 avril	3	17	16	5	41	146	3,56	71	252	3,55
16-30 avril	5	6	17	2	30	106	3,54			
1-15 mai	1	8	23	3	35	133	3,80	60	221	3,68
16-31 mai	3	6	16		25	88	3,52			
1-15 juin	2	4	7		13	44	3,38	19	68	3,58
16-30 juin			6		6	24	4,00			
1-15 juillet		1			1	3	3,00			
Total	14	43	89	10	156	563	3,61			

J'ai examiné ces mêmes pontes à un autre point de vue. Elles ont été réparties en 2 catégories: dans la première se trouvent toutes celles provenant de femelles âgées d'un an et dans la deuxième, celles issues de femelles plus vieilles (de 2, 3 ans, etc.). Comme ces dernières sont nettement plus nombreuses, il s'avère nécessaire de comparer les pourcentages. Les résultats sont les suivants: *36 pontes de femelles d'un an*, qui se répartissent ainsi:

2 pontes à 2 œufs, soit le 5,5%  
 10 » à 3 » , soit le 27,7%  
 20 » à 4 » , soit le 55,6%  
 4 » à 5 » , soit le 11,2%

*80 pontes de femelles plus âgées* se répartissent ainsi:

6 pontes à 2 œufs, soit le 7,5%  
 24 » à 3 » , soit le 30,0%

46 » à 4 » , soit le 57,5%  
 4 » à 5 » , soit le 5,0%

Il ressort de ces tableaux que le nombre d'œufs par ponte ne semble pas dépendre de l'âge de la femelle. La fréquence des pontes de 3 et 4 œufs est particulièrement intéressante parce que basée sur des nombres relativement élevés. La ponte moyenne pour les femelles d'un an est de 3,72 œufs, pour les plus vieilles: 3,60 œufs. La figure 16 fait mieux ressortir les conclusions.

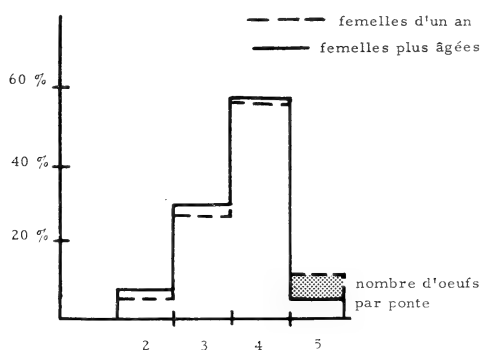


FIG. 16.

Répartition des pontes en fonction de l'âge des femelles.

Alors que certaines femelles ont effectué des pontes de nombre d'œufs constant, la majorité a fait preuve de variation. Je donne dans le tableau 7 les pontes de toutes les femelles dont j'ai observé au moins 4 pontes complètes.

L'examen de la variance des pontes de chaque femelle montre que les variations extrêmes sont réalisées par les ♀♀ 3481 et 3462, et les variations minimums par les ♀♀ 3932, puis 3561.

Ces résultats interviendront dans la discussion.

## 5. DISCUSSION

La majorité des auteurs, tels HEYDER (1931, 1953), CREUTZ (1933), attribuent le rôle déterminant au mâle dans le choix de l'emplacement de nidification, STEINBACHER (1953) affirmant au contraire, que c'est la femelle qui choisit l'emplacement du nid. Mes observations montrent clairement que les deux sexes peuvent

effectuer cette exploration, mais que la femelle est nettement plus active que le mâle dans cette recherche.

Il est très difficile de connaître les raisons pour lesquelles une femelle se décide à utiliser un vieux nid. VENABLES (1952) ne trouve

TABLEAU 7.

*Pontes complètes et variance de certaines femelles.  
(Les nombres en italique indiquent les pontes des femelles  
dans leur première année).*

Femelles		Ponte moy.	Var.	Femelles		Ponte moy.	Var.
3561	1959: 4, 4, 4, 3, 4 1960: 4, 4, 4	3,9	0,12	3481	1959: 4, 4 1960: 5, 2	3,8	1,58
3482	1960: 4 1961: 3, 4 1962: 3, 3, 4, 4	3,6	0,29	3461	1959: 3, 4, 3 1960: 2	3,0	0,67
3441	1959: 2, 4 1960: 2, 2, 2, 3	2,5	0,70	3581	1959: 3, 4, 4 1960: 4	3,8	0,25
3431	1959: 4 1960: 3, 4, 3 1961: 3	3,4	0,30	3592	1960: 4, 4 1962: 3, 4	3,8	0,25
3932	1960: 4, 4 1961: 4, 4 1962: 4	4,0	0,00	3462	1960: 3, 2, 5, 3	3,3	1,58
3451	1960: 3, 4, 3, 4, 4	3,6	0,30	3942	1960: 4, 3, 4 1961: 4	3,8	0,25
4351	1961: 4, 2 1962: 4, 4, 4	3,6	0,80	3962	1960: 3, 4, 4 1961: 4	3,8	0,25

aucune explication. Pour SNOW (1958b), l'utilisation d'un vieux nid pour une seconde couvée est en rapport avec la première, la femelle ne déposant une seconde ponte que si la première a réussi. Le tableau 2 montre que cette affirmation ne s'applique pas à Imede, puisque 5 nids pillés ont été utilisés pour une seconde ponte. Il convient cependant de remarquer que le taux de réussite des nids utilisés deux ou trois fois, à savoir 32%, est supérieur à celui de l'ensemble des nids: 14%. Il est donc possible que l'oiseau fixe son choix sur un ancien nid parce que sa situation est particulièrement favorable. On pourrait également croire que c'est un gain

de temps dans la construction qui incite une femelle à pondre dans un vieux nid. Or, comme ce sont en moyenne 12 jours qui séparent l'issue de la ponte précédente du premier œuf de la suivante (donc déposé dans le même nid), cette supposition n'est pas fondée.

Comme durée moyenne de l'incubation, GLUTZ (1962) établit 12,8 jours pour l'ensemble de la Suisse, ce qui est donc semblable au résultat d'Imede: 12,7 jours.

Dans le parc étudié, le nombre d'œufs par ponte est en moyenne de 3,61, alors que dans le reste de la Suisse il atteint 4,10 (voir tableau 8). Cette importante différence, statistiquement significa-

TABLEAU 8.

*Répartition des pontes de Suisse en fonction de la saison de reproduction.*

	Pontes à					Nombre pontes	Moy.	Ecart type
	2	3	4	5	6			
1-15 mars . .	—	4	1	1	—	6	3,50	0,84
16-31 mars . .	—	19	41	6	—	66	3,80	0,64
1-15 avril . .	3	63	134	25	—	225	3,81	0,60
16-30 avril . .	8	53	124	74	2	261	4,08	0,52
1-15 mai . . .	3	17	76	111	6	213	4,47	0,74
16-31 mai . . .	1	13	38	56	1	109	4,33	1,06
1-15 juin . .	1	6	36	17	1	61	4,18	0,70
16-30 juin . .	—	9	17	7	—	33	3,94	0,70
1-15 juillet . .	—	3	11	3	—	17	4,00	0,61
16-31 juillet . .	—	3	2	—	—	5	3,40	0,55
1-15 août . .	—	—	1	—	—	1		
Totaux . . . .	16	190	481	300	10	997	4,10	0,91

tive, provient du fait que dans la population observée, les pontes à 5 œufs ne forment que le 6,4% alors, que dans l'ensemble de la Suisse elles forment le 30% (fig. 17). Ce nombre faible de 3,61 est caractéristique de la situation urbaine et de la structure de cette population. HEYDER (1953) en Allemagne et SNOW (1958 a) en Angleterre constatent le même phénomène. Dans ce dernier

pays, les pontes les plus faibles sont observées dans les parcs londoniens: 3,67 œufs. Dans les milieux urbains et suburbains en général, le même auteur trouve une moyenne de 3,78; dans le Jardin botanique d'Oxford: 3,84; à la campagne: 3,92 et enfin dans le

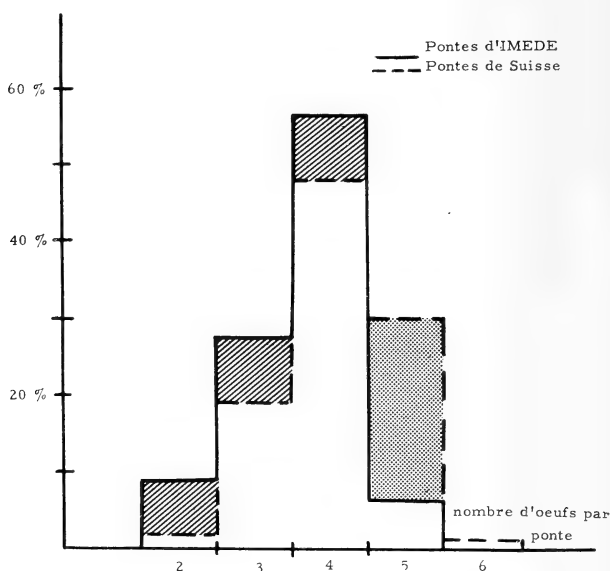


FIG. 17.

Répartition des pontes à Imede et en Suisse.

bois de Wytham, près d'Oxford, 4,10 œufs par ponte. HAVLIN (1963) relève des variations semblables en Tchécoslovaquie: 3,94 œufs par ponte dans les populations urbaines et 4,14 dans les populations forestières. En Belgique, VERHEYEN (1953) trouve une moyenne de 4,25 œufs; en Hollande, VAN'T SANT (1921): 4,35 œufs; aux Shetland, VENABLES (1952): 4,32. La moyenne d'Imede est donc très faible.

A côté du biotope, SNOW (1958a) cite encore les facteurs suivants influençant le nombre d'œufs par ponte: l'âge de l'oiseau, des caractéristiques individuelles de la femelle et les conditions météorologiques. L'influence de ces dernières n'a pas été étudiée. Par contre, j'ai montré que l'âge de la femelle ne jouait aucun rôle dans le nombre d'œufs par ponte, alors que SNOW constate à Oxford

que les femelles d'un an déposent des pontes plus petites que celles qui sont plus âgées.

Dans le tableau 7, j'ai montré que la moyenne des variances du nombre d'œufs par ponte des femelles d'Imede est égale à 0,52. Calculée d'après SNOW (1958*a*), la variance moyenne des femelles d'Oxford est de 0,94. Les variations du nombre d'œufs par ponte d'une femelle d'Imede sont donc plus faibles que celles d'une femelle d'Oxford.

LACK (1947, 1954) suppose que le nombre d'œufs par ponte correspond au nombre maximum de jeunes pour lesquels les parents peuvent trouver de la nourriture. C'est ainsi que la variation de ce nombre d'un pays à l'autre et au cours de la saison de reproduction serait fonction de la nourriture disponible. Lack constate que chez la majorité des Passereaux qui élèvent plus d'une couvée par an, le nombre d'œufs par ponte augmente de mars à mai-juin, puis diminue. Ce phénomène s'observe souvent aussi chez le Merle, comme l'ont décrit MILDENBERGER (1940) en Allemagne, VERHEYEN (1953) en Belgique, SNOW (1958 *a*) en Angleterre, GLUTZ (1962) en Suisse et HAVLIN (1963) en Tchécoslovaquie.

La figure 18 montre la variation saisonnière du nombre d'œufs par ponte dans 4 populations différentes. La courbe d'Imede se distingue des 3 autres par deux particularités. Nous constatons que dans la population étudiée le nombre d'œufs par ponte est très faible; ensuite, l'absence de toute variation importante pendant le printemps. (Il convient de ne pas attacher trop d'importance aux valeurs de fin mars et fin juin, vu le faible nombre de pontes de cette époque). Nous pourrions expliquer ces observations en admettant que les ressources alimentaires disponibles pour l'élevage des jeunes sont insuffisantes pour nourrir de grandes nichées, de 5 jeunes par exemple.

Cependant, remarquons que la quantité de nourriture disponible semble en tous les cas suffisante pour le nombre de jeunes élevés, ce que montre la très faible mortalité par inanition au nid: 2 cas sur 53 jeunes éclos. On peut donc admettre, en ayant aussi à l'esprit les nombreuses sources de nourriture du parc, qu'il y aurait, et surtout pendant la période du printemps la plus favorable, de quoi nourrir de plus grandes nichées. Si celles-ci ne comportent malgré tout qu'un nombre de jeunes inférieur à ce que l'on observe ailleurs, d'autres facteurs que la nutrition doivent probablement

intervenir. Sans pouvoir le démontrer, je suggère que les faibles pontes de la femelle sont en relation avec la forte concentration d'oiseaux dans le terrain étudié. L'agitation continuelle créée par les combats, parades d'intimidation, multiples poursuites et autres déplacements pourrait fort bien retentir sur les fonctions reproductrices de la femelle et abaisser le nombre « normal » d'œufs par

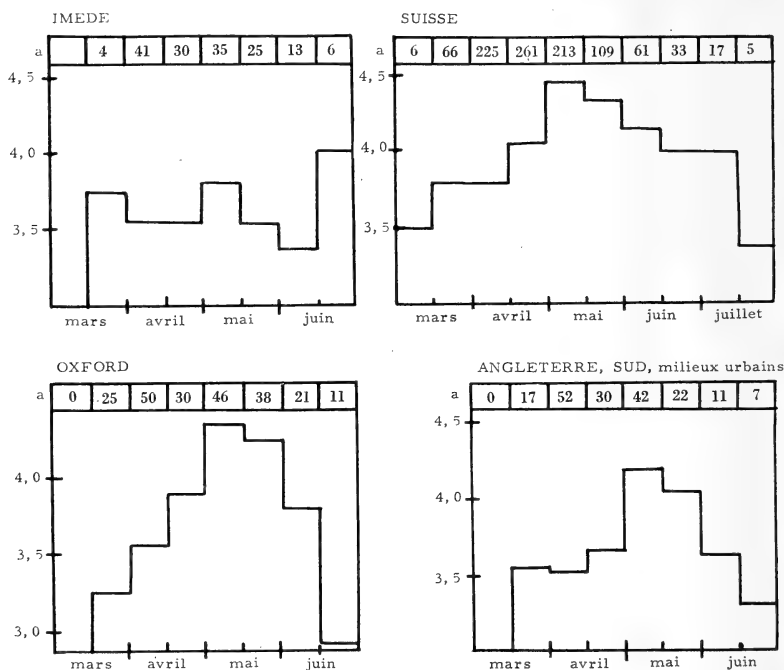


FIG. 18.

Variation du nombre d'œufs par ponte dans 4 populations différentes

a: nombre de pontes observées;  
(Résultats d'Oxford et d'Angleterre d'après Snow 1958a).

ponte. Les couples ayant de grands territoires et chez lesquels l'agitation est par conséquent moins grande, sont malheureusement trop peu nombreux pour que nous puissions comparer leurs pontes avec celles des autres couples.

Mais il s'agit là bien entendu d'une hypothèse, qu'il serait nécessaire de vérifier.



## CHAPITRE IV

## ISSUE DES NIDS

## 1. VUE D'ENSEMBLE

Découvrir le maximum de nids a été une de mes préoccupations principales. Aussi les résultats de 1960 et 1962 peuvent-ils être considérés comme un reflet fidèle de la réalité, en représentant environ le 90% du total des nids qui ont été construits à Imede. Ceux de 1959 et de 1961 sont par contre un peu fragmentaires; 1959 a été la première année d'observation avec les tâtonnements et mises au point que cela comporte, et en 1961 j'ai dû m'absenter un mois.

J'ai rassemblé les nids trouvés pendant ces quatre années dans le tableau 9 en les répartissant en 6 catégories, définies de la manière suivante:

TABLEAU 9.

*Répartition des nids en fonction de leur issue*

	1959	1960	1961	1962	Total
Couvées réussies . . . . .	7	10	5 (1)	6	28 (24)
Couvées détruites par prédateurs .	21	33	20	42	116
Couvées abandonnées . . . . .	11	16	11	15	53
Nids abandonnés avant la ponte .	5	6	13	19	43
Couvées inobservables . . . . .	13	19	24	18	74
Vieux nids . . . . .	1	11	3	24	39
Total . . . . .	58	95	76	124	353

1. *Couvées réussies* : nids dont un jeune au moins a pris un envol normal.

2. *Couvées détruites par des prédateurs* : nids dont le contenu (œufs ou jeunes) a été enlevé par un prédateur.

3. *Couvées abandonnées* : nids où la femelle a abandonné ses œufs.

4. *Nids abandonnés avant la ponte*: nids abandonnés par la femelle alors qu'ils ne contenaient pas encore d'œufs.

5. *Couvées inobservables*: nids, généralement haut placés, dont je n'ai pu observer le contenu.

6. *Vieux nids*: nids ayant été trouvés trop tard pour pouvoir connaître leur issue.

Comme l'illustre le tableau 9, le nombre de couvées réussies est extrêmement faible en comparaison du nombre de nids construits. Ce bilan est surprenant, surtout lorsqu'on connaît la grande abondance des Merles dans les quartiers suburbains. Cette remarque est également valable pour le terrain étudié où, pendant toute l'année, un nombre important d'adultes et de jeunes est régulièrement observé. La population d'Imede présente donc des caractéristiques très particulières que je vais mettre en évidence dans les paragraphes suivants. J'étudierai successivement les couvées réussies, détruites par prédation et abandonnées. Les vieux nids ne feront l'objet d'aucun commentaire spécial, alors que je vais faire les remarques suivantes concernant les couvées inobservables.

Ce groupe comprend 74 nids. Je puis affirmer, en m'appuyant sur divers recoupements, que le contenu de 40 d'entre eux a été abandonné ou détruit. Il reste donc 34 nids à issue incertaine, parmi lesquels il y a également eu des abandons et des pillages. Toutefois, un certain nombre d'entre eux a dû connaître une issue heureuse, spécialement en fin de saison. L'appréciation du nombre de ces nichées réussies, y compris celles que je n'ai jamais trouvées, est difficile à faire, mais j'évalue leur nombre à deux par an.

## 2. COUVÉES RÉUSSIES

Les couvées réussies constituent la catégorie la plus faiblement représentée à Imede. J'en ai observé respectivement 7, 10, 1 et 6 dans les années 1959 à 1962. Le chiffre 1 de 1961 est à mettre en rapport avec mon absence en juin, et j'estime que j'en aurais trouvé 5 en observant jusqu'en juillet, nombre qui figure dans le tableau 9. Pour l'ensemble des autres années d'étude, j'arrive ainsi au total de 28 nids, soit 7 par an. A cette moyenne, il convient d'ajouter les réussites des couvées inobservables et des nids qui m'ont échappés: 2 par an. Il faut en outre tenir compte des vieux

nids, groupe dans lequel certaines couvées ont également dû connaître une issue favorable; admettons une par an. Ce sont donc environ 10 couvées qui ont annuellement réussi.

Essayons de préciser les facteurs dont dépend le développement normal, c'est-à-dire la réussite, d'une nichée.

L'emplacement dans telle ou telle partie du parc ne joue aucun rôle. Les nichées réussies sont en effet réparties un peu partout et leur densité relative, par rapport aux nids construits, est partout la même. L'étude en fonction de la situation du nid nous conduit par contre à des conclusions plus intéressantes. Les 24 nids observés peuvent être groupés comme suit:

9 construits sur des arbres à feuilles persistantes .	(tot. 186 n.)
11 construits sur des arbres à feuilles caduques . .	( » 141 n.)
4 construits contre des maisons . . . . .	( » 8 n.)

Nous constatons une petite différence entre la proportion des couvées réussies de la première catégorie (4,8%) et celle de la seconde (7,8%). Cette variation s'explique par le fait que les couvées réussissent mieux en mai-juin qu'en avril. Comme en fin de saison les feuillus sont davantage fréquentés que les conifères, cette différence n'est guère surprenante.

Le taux de réussite dans les deux premières catégories est faible. Dans la troisième, par contre, il est nettement plus élevé. En effet, sur 8 nids construits contre les maisons, 4 ont donné des petits qui se sont envolés et les 4 autres pontes comportent un abandon et 3 nids inobservables; parmi ces derniers 2 ont certainement été abandonnés ou détruits. Les nombres en présence sont faibles, mais la conclusion néanmoins évidente: en construisant contre des maisons (sur des volets, stores), le couple augmente les chances de réussite de la couvée. La raison en est simple: les Corvidés et les Rongeurs ne se hasardent que rarement contre les façades des maisons et sous les balcons pendant la bonne saison. Peut-être y a-t-il également moins d'abandons.

Les femelles âgées ont-elles davantage de succès dans l'élevage de leurs nichées que les jeunes? Là encore, les données que nous pouvons confronter sont maigres, vu le faible nombre de couvées réussies; 5 de ces dernières ont été élevées par des femelles dans leur première année tandis que 11 autres l'ont été par des femelles plus âgées (et 8 par des femelles d'âge inconnu). Or ces nombres

correspondent exactement à la structure de la population qui comprend deux fois plus de vieilles femelles que de jeunes. L'âge ne joue donc probablement aucun rôle dans le taux de réussite des couvées. Y a-t-il d'autres facteurs individuels qui interviennent et qui favoriseraient certaines femelles ? Là encore, je répondrai négativement, puisque je n'ai observé que deux femelles ayant élevé avec succès 2 nichées dans leur existence. Les 20 autres nichées se répartissent toutes entre des femelles différentes, qui n'ont donc chacune mené qu'une couvée à bien, du moins à ma connaissance.

L'examen des couvées réussies dont j'ai connu le nombre d'œufs par ponte donne le résultat suivant :

1	ponte	complète	à	5	œufs	
11	pontes	complètes	à	4	»	
4	pontes	complètes	à	3	»	
Moyenne: 3,81 œufs par ponte.						

Remarquons que ce nombre est légèrement supérieur à la moyenne générale de 3,61. Il convient en outre de relever qu'aucune des 14 pontes complètes de 2 œufs n'a réussi, 7 ayant été abandonnées et les 7 autres détruites par des prédateurs. Mais ce qui est important, c'est de constater que les pontes à 4 et 5 œufs ont tout aussi bien réussi que les pontes à 2 et 3 œufs.

Examinons les couvées réussies en fonction de la période de reproduction. Elles représentent :

en avril	. . .	4,6%	de l'ensemble des nids	d'avril
en mai	. . .	18,6%	»	»
en juin	. . .	32,3%	»	»

Les couvées réussissent donc mieux en fin de saison qu'au début. Comme le taux de prédation est relativement constant, cette augmentation du nombre des réussites est une conséquence de la diminution des abandons durant la période de reproduction.

Le tableau 10 montre le nombre de jeunes qui se sont envolés par rapport au nombre d'œufs pondus; nous remarquons que 61 œufs ont donné naissance à 53 jeunes. Parmi ces derniers, 2 seulement sont morts au nid. Une couvée réussie a donc produit en moyenne 3,2 jeunes à l'envol. En reprenant notre estimation de 10 nichées réussies par an, ce sont donc 32 jeunes Merles qui ont été élevés avec succès.

## 3. COUVÉES DÉTRUITES PAR DES PRÉDATEURS

Cette catégorie de nids est la plus importante à Imede. En effet, plus de la moitié des nids ayant contenu des œufs ont été vidés par des prédateurs. Les traces laissées par ces derniers sont presque toujours insignifiantes. Dans la plupart des cas, les œufs ou les jeunes sont emportés et mangés ailleurs. Quelquefois cependant, ils sont consommés sur place et des débris peuvent demeurer dans le nid ou tomber à terre.

TABLEAU 10.

*Taux d'éclosion et taux d'envol dans les nids réussis.*

Année	Nid	Femelle	Ponte	Eclosion	Envol
1959	L6 <sub>13</sub>	3481	4	3	3
	I8 <sub>12</sub>		5	4	4
	F7 <sub>12</sub>	3531	4	4	3
	E6 <sub>1</sub>	3461	3	3	3
1960	F7 <sub>12</sub>	3451	4	4	4
	C2 <sub>11</sub>	3561	4	4	4
	N6 <sub>7</sub>	3431	3	3	3
	C7 <sub>6</sub>	3482	4	2	2
	B3 <sub>2</sub>	3942	4	2	2
	C9 <sub>2</sub>		4	4	3
1962	K9 <sub>2</sub>	3523	3	3	3
	K9 <sub>2</sub>	3523	4	4	4
	CO		4	4	4
	O4 <sub>6</sub>	4361	4	4	4
	F8 <sub>5</sub>	3842	3	2	2
	D8 <sub>10</sub>	3482	4	3	3
	16 nids		61	53	51

L'intensité de ces pillages est plus ou moins constante pendant la saison de nidification. En avril, c'est le 56% des nids ayant contenu des œufs qui a été pillé, en mai c'est le 63% et en juin le 52%. Ce qui se passe à fin juin et en juillet est difficile à observer. Il est probable qu'à cette époque le taux de destruction soit plus faible que durant les mois précédents.

Le contenu d'un nid peut être attaqué à n'importe quel moment de son développement. Pendant les périodes d'incubation et d'éclo-

sion, la probabilité de destruction reste constante. Elle est illustrée par la figure 19.

La même affirmation est peut-être valable pendant le nourrissage des jeunes au nid. Il convient cependant de remarquer qu'à cette époque, le nid est plus facilement repéré par les préda-

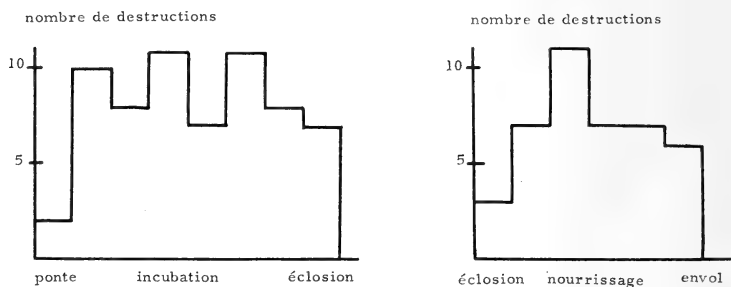


FIG. 19.

Intensité de la prédation pendant l'incubation;  
les résultats sont groupés 2 jours par 2 jours.

FIG. 20.

Intensité de la prédation pendant le nourrissage;  
les résultats sont groupés 2 jours par 2 jours.

teurs: il y a d'abord les allées et venues des parents et ensuite l'agitation provoquée par la distribution de la nourriture. La figure 20 montre la variation de l'intensité de la prédation pendant la période du nourrissage. Le minimum des deux premiers jours n'est pas obligatoirement un reflet fidèle de la réalité parce que la fin de la figure 19 et le début de la 20 doivent partiellement chevaucher. L'attaque des nids deux ou trois jours avant l'envol des jeunes provoque généralement la dispersion de ces derniers, dont certains échappent quelquefois à la mort. J'ai calculé le taux de destruction des couvées avant et après l'éclosion. Comme 75 d'entre elles ont contenu des jeunes et que par la suite 47 ont été détruites, le taux de destruction après l'éclosion est de 63%. Les pillages au stade « œuf » ont été au nombre de 69 et il faut considérer que 173 couvées ont contenu des œufs. Le taux de destruction avant l'éclosion est donc de 40%.

La différence est significative et suggère que les nombreuses allées et venues des adultes pendant le nourrissage permettent aux

prédateurs de repérer plus facilement le nid. En d'autres termes, sur 5 pontes, 2 sont détruites par des prédateurs et sur 5 nichées, il y en a 3 qui sont mangées.

#### 4. NIDS ET COUVÉES ABANDONNÉS

Les nids et couvées abandonnés par la femelle ont été également très nombreux, puisqu'il y en a au total 96. Ces abandons ont eu lieu pendant la construction du nid, pendant l'incubation ou pendant la période du nourrissage des jeunes. Ce dernier groupe ne comprend qu'un cas, qui se présente comme suit :

Le 18 avril 1962, la ♀ 4651 pond dans le nid F7<sub>12</sub>' le premier œuf. Le 3 mai, je constate que la ponte complète en comprend 4. Deux jours plus tard, j'observe la femelle couvant, de même que le 7 mai. Le lendemain, j'ai la surprise de trouver dans le nid 3 jeunes morts, non blessés et âgés de 3 jours. Observant dans les environs, je vois la femelle qui se déplace dans un marronnier, cherchant visiblement un emplacement pour nicher. Le mâle la suit. A un moment donné, elle sollicite l'accouplement, mais son conjoint ne réagit pas. Un autre mâle par contre s'approche et s'arrête à une certaine distance du couple qui, quelques instants plus tard, va pâturer dans une pelouse. Le 9 mai, la femelle entreprend la construction d'un nouveau nid et le premier œuf sera pondu le 13 mai.

Les nids abandonnés avant la ponte sont au nombre de 43. Peu nombreux en 1959 et en 1960, ils représentent par contre une proportion nettement plus grande en 1961 et 1962 (voir tableau 9). Je ne saurais dire si cette variation est un reflet fidèle de la réalité ou non. Ces nids ont été abandonnés à des stades très divers. Dans 2 cas, le nid a été abandonné 15 minutes après le transport des premiers matériaux. Dans 17 autres, sa construction a été achevée mais l'oiseau n'y a jamais déposé d'œufs. Enfin, dans 24 cas, la femelle a abandonné le nid pendant la période de construction, le laissant inachevé. Ces abandons, surtout fréquents en mars-avril, n'ont jamais été provoqués par la mort de la femelle. Cette dernière a en effet toujours été revue.

Les couvées abandonnées forment une catégorie de nids très caractéristique d'Imede. Elles sont relativement nombreuses et je vais les étudier à divers points de vue. En fonction de la saison,

les résultats sont les suivants (les pourcentages sont exprimés par rapport au nombre total de nids ayant contenu des œufs):

Couvées de mars: 1 abandon

» d'avril: 34 abandons	représentant 39,6% des nids d'avril
» de mai: 13 »	» 18,6% » » de mai
» de juin: 5 »	» 16,1% » » de juin

Une première conclusion s'impose: les femelles abandonnent principalement au début de la période de reproduction. A ce point de vue, le parallélisme avec les nids abandonnés avant la ponte est évident.

On peut se demander si la femelle abandonne sa couvée à n'importe quel instant de la période d'incubation ou si au contraire, il y a des moments pendant lesquels elle délaisse plus facilement les œufs que d'autres. La figure 21 montre que les femelles abandonnent surtout pendant les premiers jours de la couvaison et pendant les derniers, juste avant l'éclosion.

L'âge des femelles ne semble guère intervenir dans ce comportement. La population se compose d'une femelle d'un an pour deux femelles plus âgées et parmi ces dernières j'ai dénombré 28 abandons contre 9 aux plus jeunes. Nous pouvons donc affirmer que les femelles d'un an ne sont pas plus sujettes aux abandons que les vieilles qui ont pourtant davantage d'expérience.

L'ensemble des abandons se répartit entre 32 femelles différentes, parmi lesquelles 19 n'ont abandonné leur couvée qu'une fois dans leur vie (du moins à ma connaissance), 10 ont abandonné 2 couvées, 2 ont abandonné 3 fois et enfin une 4 fois. Les cas de 3 et 4 abandons par femelle sont toujours échelonnés sur 2 ou 3 ans. C'est également souvent le cas lorsqu'il y a 2 abandons. Autrement dit, il n'y a pas, parmi ces différentes femelles, d'individus prédisposés davantage aux abandons que d'autres. Il s'agit au contraire d'un phénomène généralisé, concernant chaque année une douzaine de couples.

Ces abandons concernent presque exclusivement des pontes complètes. Examinés en fonction de cette dernière caractéristique, ils se répartissent ainsi: 7 pontes à 2 œufs, 14 à 3 œufs, 24 à 4 œufs et une ponte à 5 œufs. Or nous n'avons pas là une distribution semblable à celle constatée dans le tableau 5 du chapitre III. La figure 22 montre que les pontes complètes sont d'autant plus



facilement abandonnées qu'elles comportent moins d'œufs. Il est curieux de constater que la moitié des pontes complètes de 2 œufs a été abandonnée et que sur 10 pontes à 5 œufs, une seule ait subi le même sort. Aussi sommes-nous tentés d'établir un parallèle

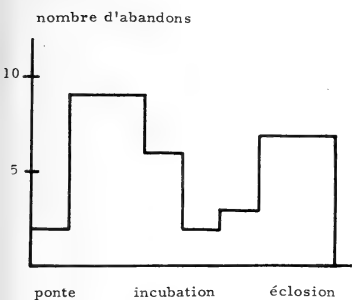


FIG. 21.

Répartition des couvées abandonnées en fonction du déroulement de l'incubation; les résultats sont groupés 2 jours par 2 jours.

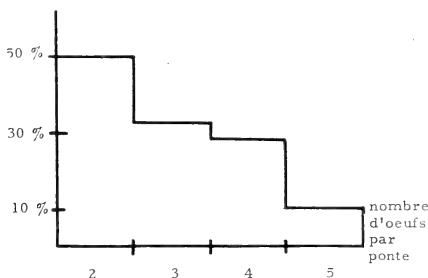


FIG. 22.

Répartition des couvées abandonnées en fonction du nombre d'œufs par ponte.

entre ces abandons et cet autre phénomène singulier: le faible nombre d'œufs par ponte à Imede.

Pour résumer ce problème complexe, nous pouvons donc constater que ces abandons apparaissent essentiellement au début du printemps; moment où l'activité nidificatrice se développe. Ils sont surtout fréquents au début et à la fin de la période d'incubation et semblent affecter plutôt les pontes anormalement faibles de 2 œufs que celles à 5 œufs, par exemple. Le nombre de femelles concerné par ce phénomène est élevé et les femelles âgées sont tout autant sujettes aux abandons que celles qui sont dans leur première année.

## 5. DISCUSSION

Le résumé des résultats précédents se présente de la manière suivante: sur 197 nids ayant contenu des œufs, 75 sont parvenus au stade de l'éclosion et 28 au stade de l'envol des jeunes. Autrement dit, le taux d'éclosion est de 38,0% et le taux d'envol de

14,2%. La comparaison de ces nombres avec les résultats d'autres ornithologues montre avec évidence combien les pertes sont considérables à Imede. SNOW (1958*b*) a observé dans la population du Jardin botanique d'Oxford un taux d'envol de 50% (222 nids), STEINBACHER (1941) dans le Jardin zoologique de Francfort 70,2% (45 nids) et au Tierpark d'Augsbourg (1953) 41,1% (56 nids). Ces trois populations, situées dans des parcs urbains comme celle d'Imede, ont donc un taux d'envol égal à trois ou cinq fois celui de cette dernière.

Les travaux basés sur l'examen de « cartes de nids » soulignent également les échecs particulièrement nombreux à Imede. C'est ainsi que SNOW 1955*b*) arrive à un taux d'envol de 41% (1428 nids) en Angleterre, VERHEYEN (1953) à 61% en Belgique (750 nids) et HAVLIN (1963) à 66,6% en Tchécoslovaquie (846 nids). J'ai étudié les cartes de nids suisses de la Station ornithologique de Sempach de la manière suivante: comme peu de nids ont été suivis de la ponte à l'échec ou la réussite, j'ai pris en considération toutes celles qui mentionnent l'issue de la couvée quel que soit le stade du nid au moment de sa découverte. Ce procédé introduit une erreur en ce sens que les nichées réussies sont proportionnellement un peu plus nombreuses qu'en réalité et les échecs trop peu représentés. Cette erreur n'influence par contre pas l'étude comparative des totaux mensuels. J'arrive aux résultats suivants:

174 nichées réussies représentant . . . . .	28,6%
345 couvées détruites par des prédateurs, soit . .	56,7%
90 couvées abandonnées, représentant . . . . .	14,7%

Constatons d'abord le grand nombre de couvées détruites par des prédateurs, représentant au minimum 56,7% de l'ensemble. L'importance de la prédation en Suisse est donc du même ordre de grandeur qu'à Imede: 58,5%. Sur le terrain étudié, nous pouvons donc considérer l'influence des prédateurs sur les couvées comme normale par rapport à l'ensemble de la Suisse. La figure 23 montre en outre que l'intensité de ces destructions, mois par mois, est relativement constante, tant à Imede que dans le reste de la Suisse.

Les remarques précédentes ne sont plus valables pour les couvées réussies et abandonnées. Les nichées réussies en Suisse, représentant un peu moins de 28,6% de l'ensemble des couvées, sont certaine-

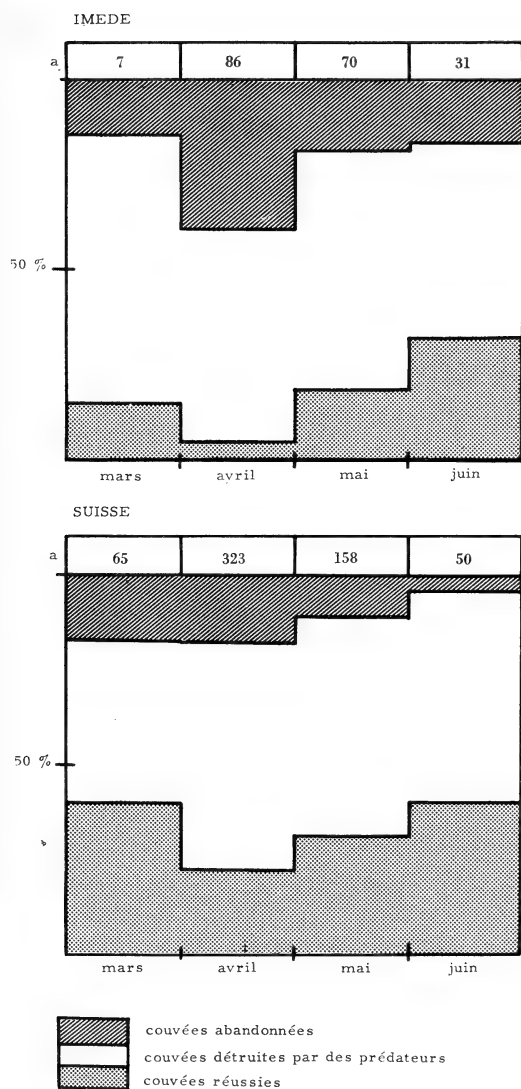


FIG. 23.

Importance relative des couvées réussies,  
détruites par des prédateurs et abandonnées à Imede et en Suisse.

a: nombre total de couvées observées

ment plus nombreuses qu'à Imede. Par rapport aux constatations faites à l'étranger les couvées réussies en Suisse représentent le pourcentage le plus faible: moins de 28,6% contre 41, 61 et 66,6% en Angleterre, Belgique et Tchécoslovaquie.<sup>1</sup> Comme nous l'indique la figure 23, la variation mensuelle du nombre des couvées réussies en Suisse est semblable à celle d'Imede. Relevons que les résultats de mars ne peuvent guère être comparés vu le faible nombre de couvées observées sur mon terrain. Dès avril, la proportion des nids réussis augmente régulièrement, mais plus rapidement à Imede qu'en Suisse. Sur le terrain étudié, elle passe de 4,6% en avril à 32,3% en juin, et en Suisse des valeurs maximums de 22,0 à 40,0%.

Alors que le nombre des couvées réussies augmente avec la saison de reproduction, celui des couvées abandonnées diminue au contraire. Ce phénomène s'observe aussi bien à Imede qu'en Suisse, et SNOW (1955*b*, 1958*b*) l'a aussi constaté en Angleterre. Une importante différence réside dans le fait que dans la population que j'ai étudiée, les abandons sont plus nombreux et les réussites plus rares qu'en Suisse. Comme l'importance des pillages est à peu près la même à Imede que dans l'ensemble du pays, le faible taux de réussite est une conséquence du nombre élevé des abandons.

L'origine de ces abandons est difficile à préciser. Dans le cas de nids abandonnés avant la ponte, nous serions quelquefois tentés de penser que l'oiseau « se rend compte » que l'emplacement choisi n'est pas celui qui convient, d'où abandon de l'ébauche. Mais cette impression doit être écartée pour deux raisons: premièrement, les nids abandonnés sont généralement aussi bien placés que les autres, et ceci tant au point de vue du couvert que du support; deuxièmement, la femelle qui vient d'abandonner ne débute la construction du nid suivant que plusieurs jours plus tard. Cette deuxième constatation, la plus importante des deux, laisse clairement entrevoir l'intervention d'un rythme physiologique perturbé. Normalement, le cycle interne de la femelle appariée comporte les stades successifs suivants: choix d'un emplacement de nidification, construction du nid, ponte, incubation, nourrissage des jeunes. Cette dernière phase atteinte, le cycle est terminé et un deuxième peut aussitôt débiter. Quelquefois, le second cycle débute même

---

<sup>1</sup> Il serait téméraire d'affirmer que ces importantes différences correspondent effectivement à la réalité. Seule l'étude comparative des documents originaux permettrait de se prononcer.

avant la fin du premier, ce qui se traduit par le phénomène bien connu des nichées emboîtées (p. ex. HEYDER 1931; BERNDT 1931): à un moment donné, la femelle se désintéresse du nourrissage des jeunes au nid et commence immédiatement la construction d'un nouveau nid. Les œufs sont généralement déposés rapidement, car la durée des premières phases du nouveau cycle est réduite au strict minimum. Le seul cas d'abandon de jeunes, relaté à la page 867, est à ce propos très intéressant. Il est en effet possible que la femelle ait abandonné sa nichée parce que son rythme de reproduction interne était dérégulé. Son comportement, le 7 mai, est celui d'un oiseau dont les jeunes viennent de s'envoler et qui se prépare à la ponte suivante. Dans son activité, la femelle aurait donc eu 10 jours d'avance, le temps de terminer le nourrissage des jeunes.

Or il arrive souvent que le déroulement normal de ces différentes phases soit brusquement interrompu par un facteur externe. Le plus fréquent est la destruction de la couvée. Tout recommence alors à zéro et l'étude des intervalles de temps au chapitre III a montré que 10 jours plus tard, la femelle en est généralement au stade de la nouvelle ponte. Mais j'ai montré, dans le même chapitre, qu'à la suite d'un abandon de la construction du nid le même stade de la ponte est atteint après 10,5 jours et enfin à la suite d'un abandon de couvée après 11 jours. Ces durées, pratiquement identiques, permettent de penser que les abandons sont provoqués par des facteurs externes qui obligent la femelle à recommencer le cycle au début, comme après l'intervention d'un prédateur.

Comment expliquer la décroissance du nombre d'abandons avec la saison? L'explication la plus plausible me semble être la suivante: les causes d'abandon doivent exister en permanence, puisque des couvées sont abandonnées pendant toute la période de reproduction. Ce qui doit varier, c'est la réceptivité de la femelle à ces causes d'abandon. Au début du printemps, le rythme interne se renforce graduellement et au fur et à mesure que la saison avance, sa stabilité augmente et affaiblit ainsi la réceptivité de la femelle aux facteurs perturbants.

La nature de ces facteurs qui déclenchent les abandons est difficile à connaître. Ce que je puis affirmer, c'est que ce n'est pas ma présence qui a pu influencer sur le comportement des oiseaux. Comme je l'ai précisé dans l'introduction (p. 822), j'ai adopté dès le

début de mes observations de tels principes de prudence que l'explication doit être cherchée ailleurs. On pourrait par exemple imaginer que la grande agitation créée par la concentration des Merles et leur territorialité développée perturbe la couvaison des femelles à un point tel, qu'il suffit ensuite d'un facteur insignifiant pour qu'elles abandonnent leur couvée.

## CHAPITRE V

### PRÉDATEURS DES COUVÉES

#### 1. OBSERVATIONS DIRECTES

Comme je viens de le montrer, le nombre de couvées détruites par des prédateurs est élevé à Imede, puisqu'il représente plus de la moitié des nids ayant contenu des œufs. Identifier les voleurs constitue un gros problème que l'observation ne résout que très partiellement et de manière peu satisfaisante.

Parmi les prédateurs observés, les Corvidés occupent la première place. J'ai noté en 1959 et 1960, 17 alarmes provoquées par la présence de Geais (*Garrulus glandarius* L.), 7 dues à des Pies (*Pica pica* L.) et 3 à des Corneilles noires (*Corvus corone* L.). Ces 3 espèces, dont la plus abondante est le Geai, nichent à Imede ou dans les environs immédiats. Leur nombre est relativement important, mais difficile à évaluer. Plusieurs couples de secteurs voisins viennent en effet à Imede, qui constitue au printemps un de leurs réservoirs de nourriture. J'ai constaté à plus d'une reprise que le Geai explore les arbres et leurs frondaisons, donnant l'impression très nette qu'il cherche des nids. Ce travail est effectué par des individus isolés ou par des couples. Alors que le 15 mai j'ai vu un couple de Merles résister (victorieusement ?) à une attaque de Pie, je n'ai pas observé de situation semblable vis-à-vis des 2 autres espèces. A deux reprises, j'ai observé un Geai venant de capturer un œuf et le transporter dans son bec et le 3 mai 1960 j'ai assisté au pillage d'un nid de Merle par une Corneille qui a emporté un petit d'environ 9 jours. Le Corvidé parti, la femelle a pâture quelques instants, puis s'est remise sur le nid. La position de ce dernier ne m'a pas permis de savoir ce qu'il contenait encore.

La propriété d'Imede abrite une importante population de chats, essentiellement présents dans la moitié nord du secteur étudié. Les dégâts commis dans les nids d'oiseaux ne semblent pas aussi importants que ceux des Corvidés, mais ces carnivores capturent par contre de jeunes Merles et des adultes, jouant un rôle non négligeable dans l'équilibre de la population.

Dans cette série de prédateurs, il convient de citer un grand suspect: l'Ecureuil (*Sciurus vulgaris* L.). Je parle de suspect, parce que je ne l'ai jamais vu attaquer un nid d'oiseau. Et pourtant, ce rongeur a la réputation de ne pas dédaigner les œufs et les jeunes, ce qui va être confirmé à Imede. Je l'ai observé presque quotidiennement et le parc doit en contenir 3 ou 4 couples.

Dernière observation de prédateur éventuel: une Hermine (*Mustela erminea* L.) se réfugiant sous un gros tas de bois mort (en L3) le 18 avril 1960.

## 2. PROCÉDÉ D'ÉTUDE: L'ŒUF POSTICHE

Dès le début de mes recherches à Imede, j'ai cherché un moyen permettant de connaître les prédateurs des couvées. C'est le 7 mai 1960 que M. le professeur H. A. Guénin et moi-même imaginons ensemble la méthode dite de « l'œuf postiche ». Ayant déjà décrit cette technique (RIBAUT 1961), je ne ferai que la résumer. Des œufs de Merle sont vidés de leur contenu; par l'ouverture pratiquée à cet effet, j'introduis dans l'œuf un fil de nylon, puis de la paraffine fondue à chaud. En se refroidissant, la paraffine se solidifie et emprisonne le fil. J'obtiens donc un œuf qui est apparemment un œuf de Merle normal, mais dont l'intérieur contient de la paraffine. Cet œuf « postiche » est déposé dans un nid contenant une ponte et je le fixe au fond en employant le fil de nylon. Le prédateur qui attaque le nid, va manger ou emporter les œufs authentiques et vouloir faire de même avec l'œuf postiche. Comme ce dernier est immobilisé au fond du nid, le prédateur risque de s'acharner sur lui en le martelant de coups de bec si c'est un oiseau, en l'entamant avec ses dents si c'est un mammifère. La paraffine de l'œuf postiche ainsi malmené portera donc des traces, dont l'examen doit permettre l'identification du voleur. Ce procédé a en outre l'avantage de ne pas modifier le comportement des prédateurs, puisque l'adjonction de l'œuf postiche ne modifie en rien l'aspect ou les environs du nid.

Je vais maintenant montrer quels moyens ont été utilisés pour déterminer les prédateurs d'après les traces laissées sur les œufs postiches. Ces derniers peuvent être répartis en 2 catégories importantes. Dans la première, se trouvent tous les œufs qui ont été plus ou moins profondément rongés (fig. 24). Les traces sont alors presque toujours caractéristiques et provoquées soit par les 2 incisives supérieures, soit par les 2 incisives inférieures d'un rongeur. La deuxième catégorie contient les œufs qui ne portent aucune trace de dents (fig. 26 et 27). Il s'agit souvent d'œufs attaqués uniquement en surface: Les empreintes sont généralement peu profondes et si beaucoup n'ont pas de forme particulière, il y en a presque toujours une ou deux qui trahissent la présence d'un Corvidé: petit trou triangulaire provenant d'un coup de bec dans l'œuf, empreinte en v provoquée par la saisie de l'œuf entre les extrémités des deux mandibules. Ces deux groupes d'animaux, Rongeurs et Corvidés, constituent la quasi totalité des prédateurs des couvées.

Dans certains cas, l'identification du voleur pose un problème très ardu, parce que entre les œufs typiquement entamés par des Rongeurs et des Corvidés, il y en a dont l'auteur est plus difficile à reconnaître. Pour essayer de déterminer ces derniers avec sûreté, j'ai pris des crânes de Rongeurs et des becs de Corvidés avec lesquels j'ai créé des empreintes-type dans des pastilles de paraffine. Mais ces pastilles « modèles » se sont révélées beaucoup trop schématiques et artificielles à l'emploi et c'est la raison pour laquelle j'ai offert des œufs postiches à des Rongeurs et à des Corvidés en captivité, obtenant ainsi des « œufs postiches modèles » entamés par l'Ecureuil, (*Sciurus vulgaris* L.), le Loir (*Glis glis* L.), et la Corneille (*Corvus corone* L.).

Parmi les nombreux œufs postiches récoltés dans les nids de Merle et marqués par des Rongeurs, certains portent des traces très étroites, qui ne semblaient guère pouvoir être attribuées à l'Ecureuil. S'agissait-il de Mulots ou de Muscardins ? Le 16 avril 1962, je décidai de poser des trappes dans les 3 régions où sévissaient ces petits rongeurs: H5, C8 et E9. Le lendemain déjà, je capturais 2 Mulots (*Apodemus sylvaticus* L.) qui furent mis en élevage. Après deux jours de jeûne, ils me donnèrent de belles empreintes sur des œufs modèles, empreintes identiques à celles qui m'intriguaient (fig. 25).

Il est malheureusement impossible de distinguer entre elles les différentes espèces de Corvidés qui commettent des dégâts à



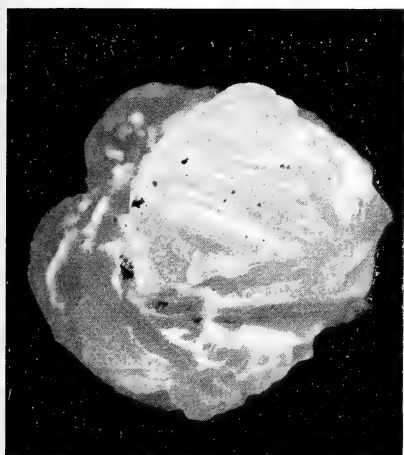


FIG. 24.

Oeuf postiche entamé par un Ecureuil  
(*Sciurus vulgaris*)



FIG. 25.

Oeuf postiche modèle, entamé par  
un Mulot (*Apodemus sylvaticus*) en cage.



FIG. 26.

Oeuf postiche entamé par un Corvidé,  
montrant les 2 empreintes laissées par  
les arêtes d'une des deux mandibules.

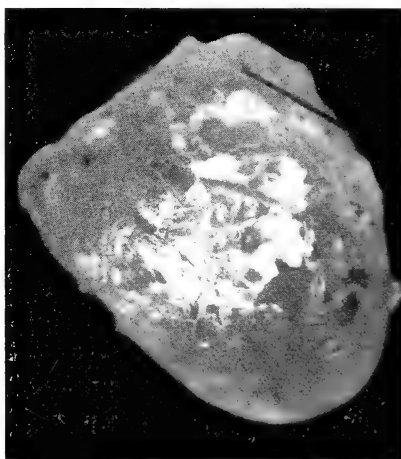


FIG. 27.

Oeuf postiche entamé par un Corvidé:  
dans ce cas, l'œuf a été martelé  
par l'oiseau.

Imede. Le problème se pose différemment chez les Rongeurs car leurs incisives supérieures forment des empreintes de largeur caractéristique lorsqu'ils les plantent dans la paraffine pour ronger avec les incisives inférieures. Mais il convient de bien mesurer la largeur des incisives supérieures, parce que les traces des incisives inférieures sont de largeur variable. L'écartement de leur extrémité libre est en effet variable et comme l'Ecureuil a des incisives inférieures particulièrement étroites, elles peuvent donner des traces de la largeur de celles du Mulot: 0,8 mm (voir aussi E. MOHR 1950). Pour identifier le prédateur, j'ai par conséquent mesuré à la loupe binoculaire la largeur des marques d'incisives supérieures sur les œufs postiches modèles et j'ai obtenu les grandeurs suivantes:

Ecureuil: <i>Sciurus vulgaris</i> L. . . .	en gén. 1,8-2,2 mm
Loir: <i>Glis glis</i> L. . . . .	» » 1,5-1,6 mm
Mulot: <i>Apodemus sylvaticus</i> L. .	» » 0,8-1,2 mm

Certaines traces d'Ecureuil ou de Mulot peuvent être nettement plus larges, lorsqu'elles sont profondes. Mais comme ces Rongeurs ne ménagent en général pas leurs coups de dents, on peut se prononcer assez facilement sur l'identité du prédateur. Seuls cas vraiment insolubles: ceux où l'animal a tout mangé et ne laisse dans le nid que quelques miettes de paraffine !

### 3. LES RÉSULTATS

Dès le mois de mai 1960, j'ai posé dans tous les nids occupés un œuf postiche, que le nid contienne des œufs ou des jeunes. Lorsque la ponte vient à être abandonnée, j'enlève les vrais œufs et laisse l'œuf postiche. Dans le cas où les œufs ou les jeunes ont été emportés, mais pas l'œuf postiche, je le laisse également dans le nid. Lorsque cet œuf postiche « isolé » vient à être attaqué, je le remplace par un nouveau. De cette manière, j'ai obtenu d'un seul nid jusqu'à 5 œufs entamés. Ces quelques explications permettent de comprendre la répartition des différents œufs postiches en 4 catégories.

La première comprend les œufs postiches provenant de nids attaqués alors qu'ils contenaient des œufs. La deuxième catégorie contient les œufs postiches provenant de nids attaqués alors qu'ils contenaient des jeunes. Dans la troisième, nous trouvons les œufs

postiches des nids anciens et qui étaient donc seuls au moment où un prédateur les a attaqués. Enfin, la quatrième catégorie, bien distincte des précédentes, est celle où l'œuf postiche, posé dans un nid inoccupé, n'a jamais été attaqué.

TABLEAU 11.

*Résultats des nids attaqués par un prédateur, alors qu'ils étaient munis d'un œuf postiche.*

Prédateurs	Nids avec			Total
	œufs Couvées	jeunes Nichées	anciens nids	
Corvidés . . . . .	17	3	22	42
Ecureuil <i>Sciurus vulgaris</i> L. .	5	1	30	36
Loir <i>Glis glis</i> L. . . . .	—	—	1	1
Mulot <i>Apodemus sylvaticus</i> L.	—	—	6	6
Rongeurs sp (op emporté) . .	7	2	15	24
Chat <i>Felis domestica</i> L. . . .	2	1	1	4
Hermine <i>Mustela erminea</i> L..	—	1	—	1
Oeufs postiches indéterminés	—	—	6	6
Oeufs postiches laissés intacts	7	18	35	60
Total . . . . .	38	26	116	180

Les résultats des trois premiers groupes figurent dans le tableau 11 et je vais les commenter successivement.

1. Ce sont donc 38 pontes munies d'un œuf postiche qui ont été victimes de pillages. Chez 17 d'entre elles, l'auteur est un Corvidé, alors que chez 5 autres, c'est l'Ecureuil qui a mangé les œufs. Dans 7 cas, l'œuf postiche a été emporté, le fil de nylon ayant été sectionné. On peut raisonnablement attribuer ce travail à des Rongeurs plutôt qu'à des Corvidés et je pense que dans la plupart des cas il s'agit de l'Ecureuil. Deux nids ont été vraisemblablement pillés par un chat, mais comme ce dernier n'a pas laissé d'empreintes sur l'œuf postiche, je n'en ai pas la certitude. Enfin, 7 nids ont été vidés sans que les prédateurs ne touchent à l'œuf postiche. Concernant l'identité de ces voleurs, nous en sommes évidemment réduit à des suppositions. Il s'agit d'animaux qui ont renoncé à l'œuf postiche soit parce qu'ils ont senti qu'il s'agissait

d'un corps étranger, soit parce qu'ils ont été rendus méfiants par son immobilisation dans le nid. La première supposition ne peut concerner que les Mammifères puisque l'odorat des oiseaux est peu développé alors que celui des Rongeurs par exemple, est un sens très important. La deuxième explication peut s'appliquer aussi bien à des Corvidés qu'à des Rongeurs, puisque les représentants des deux groupes emportent souvent leur butin pour le manger ailleurs.

Pour résumer, on peut donc affirmer que la prédation dans les couvées est due en grande partie aux Corvidés et que parmi les autres pilleurs, les Rongeurs occupent la place la plus importante, tout spécialement l'Ecureuil.

2. Les œufs postiches nous renseignent malheureusement beaucoup moins sur les prédateurs de jeunes oisillons. En effet, sur 26 œufs postiches présents dans des nids pillés, 18 ont été laissés intacts, le prédateur se contentant de manger les jeunes. Dans deux de ces nids, les jeunes étaient accompagnés d'un œuf infécond. Dans un cas, l'œuf infécond a été mangé, dans l'autre, il a été laissé intact, comme l'œuf postiche. Dans les 8 autres cas, le prédateur est connu: il s'agit de 3 Corvidés, 1 Ecureuil, 2 Rongeurs indéterminés, 1 Hermine et 1 chat. L'œuf postiche qui accompagnait ce dernier nid était intact après le rapt, et c'est la présence du félin sur les lieux du délit qui m'a permis de lui attribuer ce méfait. Nous ne sommes donc que très partiellement renseignés sur les prédateurs de jeunes oisillons et il faut reconnaître que dans cette catégorie, le procédé de l'œuf postiche est déficient.

3. Dans la troisième colonne du tableau 11 nous trouvons les résultats des œufs postiches posés dans des nids anciens, donc vides. Sur un total de 116 œufs déposés, 81 ont été attaqués et 35 sont restés intacts jusqu'à la fin de la saison. Parmi les 81 attaqués, 22 ont été entamés par des Corvidés et 30 par des Ecureuils; 6 œufs postiches ont été mangés par des Mulots et un par un Loir. Les 7 derniers nids correspondants étaient construits entre 1 et 2 m de hauteur, dans des secteurs à végétation plutôt dense: murs et arbres recouverts de lierre. Dans l'ensemble, les Rongeurs ont donc détruit 52 œufs postiches, contre 22 aux Corvidés. Cette proportion est assez surprenante par rapport à celle constatée chez les couvées: 12 Rongeurs et 17 Corvidés. Différents facteurs peuvent intervenir

pour l'expliquer et je pense que l'un des plus importants vient du fait que les Corvidés cherchent et trouvent les couvées surtout au début du printemps, où la végétation n'est pas encore très dense. L'activité des Rongeurs est davantage indépendante de la saison. Comme les œufs postiches ont été déposés dans des nids vides surtout en fin de saison, il n'est pas étonnant que les Rongeurs aient commis la majorité des dégâts.

Parmi les 35 œufs postiches qui n'ont jamais été attaqués, l'un est demeuré intact du 19 avril 1962 au 15 août de la même année, soit 113 jours. Le nid était dans un buisson de laurèle, relativement bien caché. Le record inverse est détenu par un nid placé dans un épais fourré d'if et dont l'œuf postiche a été attaqué dans les 24 heures par un Corvidé. Entre ces deux limites, nous trouvons tous les intermédiaires.

Les Corvidés, tout comme l'Ecureuil, ont exercé leurs destructions dans toutes les régions du parc. Il n'existe pas de secteur où les Corvidés ont effectué nettement plus de pillages que l'Ecureuil ou inversement. Et pourtant, ainsi que le montre le tableau 12, certains nids ont été systématiquement attaqués par des Corvidés, d'autres par des Rongeurs. L'explication est simple: les nids peu cachés, visibles de loin, sont facilement repérés par les Corvidés, puis pillés. L'exemple de plus caractéristique est celui du nid N5<sub>6</sub>, placé dans une grosse enfourchure de troncs et visible à plus de 50 mètres. Les nids très bien dissimulés, par contre, échappent généralement à l'observation des Corvidés. Mais s'ils sont construits contre un tronc ou une branche importante, tels N6<sub>7</sub> et C3<sub>8</sub>, lieu de passage de l'Ecureuil, ils ont néanmoins de fortes chances d'être pillés. L'exemple typique est celui du nid F7<sub>3</sub>, situé sur une forte branche de Marronnier, invisible, même à 1 mètre, et qui a été visité 3 fois par un Ecureuil. Il est d'ailleurs possible que ce dernier ait passé plus de 3 fois par le nid, mais qu'il n'a pas toujours été suffisamment affamé pour goûter à l'œuf postiche.

La proportion d'œufs postiches placés dans d'anciens nids et qui n'ont jamais été attaqués augmente légèrement de mois en mois; autrement dit, le taux de prédation dans ces nids baisse quelque peu avec le déroulement de la saison. Cette diminution du taux de destruction s'explique par un ralentissement de l'activité des prédateurs ailés à partir du mois de juin et par la difficulté croissante à trouver les nids. Nous trouvons une autre preuve de

cette diminution de la prédation en comparant l'intervalle de temps séparant la pose d'un œuf postiche et sa destruction.

10,0 jours en avril	. . . . .	(13 nids)
12,3 » en mai	. . . . .	(20 » )
13,5 » en juin	. . . . .	(33 » )
14,8 » en juillet	. . . . .	( 9 » )

Essayons de résumer ces différentes considérations en n'oubliant pas que les nids sur lesquels ont porté ces investigations ont été accessibles et que ce qui se passe dans les frondaisons peut être différent.

TABLEAU 12.

*Issue des nids ayant contenu successivement plus de deux œufs postiches.  
(les durées sont approximatives)*

Nid	Nids occupés Issue	Nids anciens Durée (en jours) et prédateur			
		du 2 <sup>e</sup> o.p.	3 <sup>e</sup> o.p.	4 <sup>e</sup> o.p.	5 <sup>e</sup> o.p.
F8 <sub>8</sub>	13.4 Prédation: Corvidé	5 Corv.	4 Rong.	2 Ecur.	3 Ecur.
N6 <sub>7</sub>	29.4 Ponte abandonnée	7 Rong.	7 Ecur.	10 Ecur.	Ecur.
C3 <sub>6</sub>	3.6 Aband. avant ponte	5 Corv.	9 { Corv. Ecur.	4 Corv.	6 Ecur.
C3 <sub>8</sub>	18.5 Prédation: Corvidé	6 Ecur.	5 Ecur.	18 Ecur.	
H7 <sub>12</sub>	3.6 Aband. avant ponte	2 Rong.	3 Rong.	10 Rong.	
D6 <sub>14</sub>	1.5 Prédation	34 Corv.	27 Corv.	18 Mulot	
B9 <sub>15</sub>	28.4 Prédation	3 Corv.	{ nichée : Corv.	23 Loir	
F7 <sub>3</sub>	6.6 Abandon, car ♀ tuée	8 Ecur.	Ecur.		
F7 <sub>11</sub>	6.6 Prédation: Ecureuil	13 Rong.	22 Ecur.		
C5 <sub>5</sub>	28.4 Ponte abandonnée	11 { Corv. Ecur.	4 Ecur.		
D2 <sub>6</sub>	15.5 Ponte abandonnée	25 Corv.	30 Corv.		
L7 <sub>4</sub>	29.4 Prédation: chat?	7 Corv.	10 Ecur.		
<i>Cas particulier :</i>					
N5 <sub>6</sub>	24.4 Prédation: Corvidé — 2 <sup>e</sup> ponte, 18.5 Préd. Corv. — 3 <sup>e</sup> ponte 2.6 Corv.				

Les auteurs principaux des pillages dans les nids sont les Corvidés et l'Ecureuil. L'action de ces prédateurs ralentit en fin de période de reproduction et en avril-mai, ce sont surtout les Corvidés qui détruisent les couvées et nichées, alors qu'en juin-juillet il s'agit

principalement des Rongeurs. Le comportement de ces deux groupes de prédateurs est différent: alors que les Corvidés cherchent souvent les nids, les Rongeurs les découvrent la plupart du temps par hasard lors de leurs pérégrinations. L'emplacement du nid joue donc un rôle très important et il n'est pas surprenant que les nids construits contre les maisons et peu visibles soient moins pillés que ceux du biotope primitif. Nous rejoignons ainsi une conclusion du chapitre IV.

#### 4. DISCUSSION

A ma connaissance, les études ornithologiques entreprises jusqu'à ce jour ne nous donnent aucune indication sur l'aspect quantitatif de l'activité des différentes espèces de prédateurs de couvées. L'aspect qualitatif est par contre souvent connu et on sait depuis longtemps que les Geais, Pies et Corneilles commettent beaucoup de dégâts dans les nids des Passereaux. Les observations se rapportant à l'Ecureuil sont moins nombreuses, quoique la réputation de ce prédateur soit cependant bien établie. Je cite à titre purement indicatif les causes de destructions des couvées de Merles recueillies sur les quelque 1000 cartes de nids de la Station de Sempach:

20 destructions par les chats;

32       »       » les Corvidés (13 Pies, 9 Geais, 6 Corneilles);

2       »       » les Rongeurs.

Il est particulièrement curieux de constater à quel point le comportement des Rongeurs passe inaperçu et pourtant leurs dégâts sont considérables. Il est vrai que les petites espèces sont généralement nocturnes, mais l'Ecureuil doit visiter les nids de jour.

Je pense qu'il est superflu d'expliquer pour quelles raisons ces données des cartes de nids ne représentent qu'un aspect tout à fait partiel du problème qui nous occupe ici.

Par le procédé de l'œuf postiche, par contre, nous avons la possibilité de connaître la grande majorité des espèces prédatrices et ensuite de pouvoir nous livrer à une étude quantitative des destructions de pontes, même si la méthode laisse encore à désirer sur certains points.

## CHAPITRE VI

## DYNAMIQUE DE LA POPULATION

## 1. LE TAUX DE REPRODUCTION DE LA POPULATION

Comme l'a déjà suggéré l'étude de l'issue des nids, le taux de reproduction de la population est très faible, puisque ce ne sont que 10 couvées qui connaissent annuellement une issue favorable. Pour déterminer ce taux, c'est-à-dire le nombre de jeunes qui atteignent l'âge adulte, à partir des données citées plus haut, il faut connaître ou déterminer le nombre moyen d'œufs par ponte, le taux d'éclosion, le taux d'envol et l'espérance de vie des jeunes au stade de l'envol. C'est seulement ensuite que l'on pourra calculer le taux de reproduction de la population étudiée.

Le nombre d'œufs par ponte est en moyenne de 3,61. Le « taux d'éclosion » se détermine en écartant toutes les couvées abandonnées ou détruites par des prédateurs. Dans ces conditions, 170 œufs ont donné 152 jeunes; le taux d'éclosion est donc de 89,4%. Le calcul du taux d'envol est beaucoup plus difficile à faire, car il est délicat de déterminer le nombre de jeunes quittant normalement le nid. Par prudence, je n'ai en effet jamais visité le nid dans les jours précédant l'envol. J'ai régulièrement évalué à distance, le nombre de jeunes encore au nid; mais mes observations sont peu nombreuses. En écartant les nichées détruites et abandonnées,

j'obtiens un « taux d'envol » de  $\frac{51}{53} = 96\%$ . (voir tableau 10).

L'espérance de vie des Merles au stade de l'envol n'a pu être déterminée à Imede. Je n'ai en effet que peu de renseignements à propos des 51 jeunes Merles bagués qui se sont envolés pendant ces quatre années. L'un d'entre eux a été trouvé 3 jours après l'envol à 200 mètres du nid; un deuxième a été retrouvé 3 semaines après avoir été bagué. Un troisième est mort à l'âge de 2 mois et 4 ont franchi le cap de la première année et se sont reproduits. Deux



ont niché sur les lieux même de leur naissance, un troisième 150 mètres à l'ouest et le quatrième 600 mètres à l'ouest. Le sort des autres jeunes est inconnu. Ces résultats fragmentaires ne permettent évidemment pas de calculer l'espérance de vie des jeunes, et par conséquent pas non plus le taux de reproduction de la population. Cependant, pour connaître la valeur approximative de ce dernier, on peut utiliser la moyenne des mortalités trouvées par différents auteurs, qui est égale à 65%. Donc, sur 100 jeunes quittant le nid, 35 sont généralement encore en vie un an après; leur espérance

de vie est donc de  $E = \frac{1}{M} - 0,5 = 1$  an.

La détermination du taux de reproduction conduit donc au résultat suivant. Chaque couvée comportant 3,61 œufs, les 10 couvées annuelles totalisent 36,1 œufs avant l'éclosion. Après l'éclosion, il reste  $36,1 \times 89,4\% = 32,2$  œufs. Le taux d'envol étant de 96%, les 32,2 œufs permettent à 31 jeunes de s'envoler. Dans l'étude des couvées réussies (p. 864) j'ai montré que l'observation directe conduisait au résultat de 32 jeunes. Les résultats sont donc semblables.

Avec un taux de survie de 35% (au stade de l'envol), ces 31 à 32 jeunes donnent 11 Merles âgés d'un an. Les 27 couples de la population produisent donc annuellement 11 jeunes aptes à se reproduire. Il est évident que ce résultat est approximatif, et qu'il ne doit être considéré que comme un ordre de grandeur.

## 2. LA MORTALITÉ

Ayant déjà étudié la mortalité au stade « œuf » et « jeune au nid » (voir p. 865 et suivantes) je me bornerai ici à examiner la mortalité annuelle des adultes que l'on peut déterminer par 4 procédés différents, tous quatre n'aboutissant d'ailleurs qu'à des résultats approximatifs.

La première méthode concerne l'examen des Merles bagués morts à Imede ou dans les environs immédiats. Parmi les 28 oiseaux ainsi trouvés et âgés d'un an au minimum, il y a 20 mâles et 8 femelles. Je connais l'âge exact de 20 de ces 28 individus, alors que

pour les 8 autres je ne connais que l'âge minimum. Leur répartition dans les différentes classes d'âge est la suivante:

2 Merles morts à l'âge d'un an			
9	»	»	dans leur deuxième année
8	»	»	dans leur troisième année
5	»	»	dans leur quatrième année
2	»	»	dans leur cinquième année
2	»	»	dans leur sixième année

La mortalité moyenne de cet échantillon, calculée d'après la formule:

$$\text{Mortalité} = \frac{D_1 + D_2 + D_3 + \dots D_n}{D_1 + 2D_2 + 3D_3 + \dots nD_n}$$

est de 33% et l'espérance de vie de 2,5 ans. Comme un nombre important de Merles étaient encore en vie au moment où les observations ont été arrêtées, la mortalité calculée est supérieure à la mortalité réelle et l'espérance de vie de 2,5 ans inférieure à l'espérance de vie réelle.

TABLEAU 13.

*Contrôles effectués d'un printemps à l'autre.  
(Les oiseaux revus ont niché à Imede ou dans les environs).*

	1959-1960			1960-1961			1961-1962			Total		
	♂	♀	Tot.	♂	♀	Tot.	♂	♀	Tot.	♂	♀	Tot.
Nombre d'oiseaux bagués	16	9	25	20	20	40	26	24	50	62	53	115
Nombre d'oiseaux revus	11	7	18	12	12	24	20	13	33	43	32	75
Taux de survie . . . . .	72%			60%			66%			69%	60%	65%
Mortalité . . . . .	28%			40%			34%			31%	40%	35%

J'emploierai comme deuxième procédé celui des contrôles, dont les résultats figurent dans le tableau 13. Ce qui fausse les conclusions de cette méthode, c'est que les oiseaux nicheurs ne sont pas tous fidèles à leur territoire d'un printemps à l'autre. Autrement dit,

parmi les oiseaux « non revus » et considérés comme morts, il y en a un certain nombre encore en vie, tout spécialement des femelles, puisque leur attachement au territoire est plus faible que celui des mâles. Par conséquent, les mortalités de 31% chez les mâles et de 40% chez les femelles représentent, ici encore, des valeurs maximales.

La troisième méthode destinée à calculer la mortalité des oiseaux nicheurs s'appuie sur la structure de la population du printemps 1962. Dans cette dernière saison d'observation, la presque totalité des Merles étaient bagués en couleurs, certains depuis 1959. Voici quelle était la structure de la population :

*Mâles :*

6 oiseaux d'un an	
7 » de 2 ans	2 oiseaux de 2 ans au minimum
1 » de 3 »	5 » de 3 » » »
	4 » de 4 » » »
1 » de 5 »	3 » de 5 » » »

*Femelles :*

6 oiseaux d'un an	
5 » de 2 ans	6 oiseaux de 2 ans au minimum
5 » de 3 »	3 » de 3 » » »
	2 » de 4 » » »
1 » de 5 »	

En admettant que les oiseaux de 2, 3, 4 et 5 ans au minimum n'ont effectivement que 2, 3, 4 et 5 ans (ce qui n'est certainement pas le cas pour tous) et en supposant que tous ces individus meurent l'année suivante (ce qui ne s'est pas produit), je puis à nouveau calculer la mortalité moyenne de cet échantillon par la formule appliquée dans le premier procédé. Le résultat est de 26% pour les mâles et de 30% pour les femelles. Les deux causes d'erreur signalées plus haut agissent dans le même sens en élevant le taux de mortalité; par ce procédé, je puis donc affirmer que les mâles ont une mortalité annuelle inférieure à 26% et les femelles une mortalité inférieure à 30%.

Le quatrième procédé, basé sur le rapport des Merles nicheurs âgés d'un an à l'ensemble de la population, ne donne de résultat

correct que si les effectifs de la population sont constants d'un printemps à l'autre et si le taux de reproduction est égal au taux de mortalité. Si le premier taux est inférieur au second, ce qui est vraisemblablement le cas à Imede, (voir p. 891) le taux de mortalité calculé est inférieur au taux réel, car il y a alors parmi les oiseaux qui immigrent non seulement des individus d'un an, mais aussi des Merles plus âgés.

Les résultats, mis en évidence par le tableau 14, indiquent pour l'ensemble des 4 années une mortalité minimum théorique de 23% pour les mâles et de 36% chez les femelles.

TABLEAU 14.  
*Proportion des nicheurs âgés d'un an par rapport à l'ensemble de la population.*

	1958-1959			1959-1960			1960-1961			1961-1962			Total		
	♂	♀	Tot.	♂	♀	Tot.	♂	♀	Tot.	♂	♀	Tot.	♂	♀	Tot.
Oiseaux d'un an .	4	5	9	3	8	11	8	10	18	6	6	12	21	29	50
Total des nicheurs .	16	9	25	22	21	43	25	25	50	28	26	54	91	81	172
Mortalité .	36%			26%			36%			22%			23%	36%	29%

Les valeurs obtenues par ces 4 procédés différents ne constituent que des ordres de grandeurs, puisque aucun procédé n'est exact et que la population est trop petite pour que les effets du hasard soient négligeables. La comparaison des résultats permet cependant de conclure que la mortalité moyenne des mâles nicheurs doit osciller autour de 25% et celle des femelles être comprise entre 30 et 35%.

Il est intéressant de remarquer que les variations de la mortalité annuelle de 1959 à 1962 coïncident dans les tableaux 13 et 14. Nous ne pouvons cependant mettre ces variations directement en rapport avec la rigueur de l'hiver, puisque c'est pendant l'hiver le plus rigoureux que la mortalité a été la plus faible.

En plus des 28 Merles bagués trouvés morts à Imede, j'ai récolté 9 autres cadavres, non bagués, concernant soit des résidents non bagués, soit des individus de la réserve. La répartition de tous ces oiseaux en fonction de l'année est mise en évidence par la figure 28.

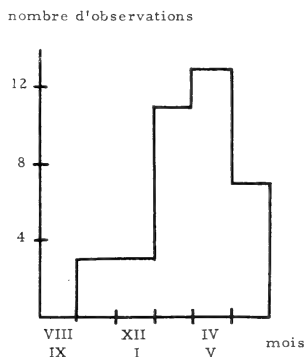


FIG. 28.

Répartition de 37 Merles trouvés morts à Imede.  
Les mois sont groupés deux par deux.

Avant de l'interpréter, il convient de ne pas oublier que mes observations ont été beaucoup plus nombreuses au printemps que pendant le reste de l'année; il est donc possible que le graphique ne corresponde pas exactement à la réalité. L'erreur introduite doit cependant être faible, les cadavres de Merles pouvant être repérés pendant plusieurs semaines; j'en ai d'ailleurs trouvé à tous les stades de décomposition.

La plus forte mortalité est constatée à la fin de l'hiver et pendant la période de reproduction. La faible mortalité de l'automne et du début de l'hiver s'explique par l'abondance de la nourriture disponible, dont les fruits, d'abord les pommes, ensuite les baies de houx et de lierre. A partir de janvier, les ressources naturelles se raréfient et les Merles sont alors fréquemment observés sur les nombreuses mangeoires du quartier. La sensible élévation du taux de mortalité en février-mars est, à mon avis, la conséquence de deux facteurs. Premièrement, les oiseaux sont à cette époque moins résistants qu'au début de l'hiver, ensuite, à cet affaiblissement d'origine alimentaire, correspondant à la fin de la période

écologiquement défavorable, s'adjoit dès fin février un affaiblissement causé par la renaissance du comportement territorial. Les importants moments de la journée que les oiseaux consacrent à acquérir ou reconquérir un territoire ont aussi pour conséquence de diminuer le temps disponible pour la recherche de la nourriture.

Pendant la saison de nidification, la territorialité ne baisse que progressivement dès mars, et l'influence précédemment décrite sur la condition physique de l'oiseau subsiste, quoique diminuée. La reproduction, spécialement avec la construction du nid et le nourrissage des jeunes, représente, pour le Merle une dépense d'énergie supplémentaire, l'obligeant à parcourir quelquefois des distances importantes et l'exposant ainsi davantage aux accidents et aux prédateurs. Enfin, troisième considération, il est possible que l'activité des prédateurs augmente pendant le printemps, vu qu'ils ont eux aussi des jeunes à nourrir.

Si une diminution de la résistance physique, pour des causes de sous-alimentation ou d'activité particulièrement grande, semble être dans la majorité des cas le facteur médiateur de mortalité, les facteurs immédiats sont par contre plus difficiles à connaître. J'ai pu établir, ou faire établir, la cause de mortalité de 14 Merles, tous morts entre février et juillet; 7 individus ont été tués par des prédateurs, dont 3 par un rapace; 3 ont été écrasés par des voitures, 3 ont vraisemblablement subi une intoxication alimentaire et une femelle est morte de maladie inconnue. Comme les oiseaux tués accidentellement ou plumés par un prédateur sont vraisemblablement plus facilement repérés que ceux qui meurent de maladie, je pense qu'il est impossible de tirer des conclusions quantitatives des 14 cas de mortalité observés.

### 3. STRUCTURE ET STABILITÉ DE LA POPULATION

Mes observations ayant été effectuées essentiellement au printemps, j'étudierai seulement la structure de la population à cette époque de l'année. La population se compose alors de deux éléments principaux: les oiseaux nicheurs, et la réserve de population. Le nombre des couples nichant chaque printemps peut être estimé à 27-28. Ce qu'il est très important de relever ici, c'est que ce nombre n'a pas varié pendant les 4 années d'observation; la population des nicheurs est par conséquent remarquablement stable. Le reste

de la population comprend la réserve, et j'inclus dans cette catégorie les quelques mâles célibataires qui ont conquis un territoire. Ces derniers sont très disséminés, puisque j'en ai observé un seul par année. Les individus de la réserve de population sont par contre plus nombreux, et j'en ai identifié 9 en 1960 et 9 autres en 1962. Je suis précédemment arrivé à la conclusion (p. 838) qu'il était possible que la réserve de population comprenne davantage de mâles que de femelles. Cette supposition, basée sur l'observation directe, est confirmée par les conclusions du paragraphe précédent, puisque la mortalité des mâles est inférieure à celle des femelles.

La structure de la population des couples nicheurs a déjà été partiellement étudiée. J'ai en effet déjà montré quelle était l'importance relative des oiseaux nicheurs âgés d'un an et les conclusions qu'on pouvait en tirer. Par ailleurs, la structure de la population du printemps 1962 a aussi été exposée. Utilisant les mortalités moyennes de 25% pour les mâles et de 33% pour les femelles, il est possible de calculer la structure théorique de cette population de 27 couples. Il faut toutefois supposer que la mortalité est indépendante de l'âge, ce qui paraît logique, vu que l'espérance de vie des adultes (env. 2,8 ans) est considérablement plus faible que leur longévité potentielle (plus de 20 ans). Le résultat est le suivant:

Classes d'âge:	Total	1	2	3	4	5	6 ans et plus
Mâles . . . . .	27	7	5	4	3	2	6
Femelles . . . . .	27	9	6	4	3	2	3

Puisque j'observe des échanges constants d'oiseaux nicheurs entre Imede et les environs, il ne sera jamais possible d'observer ce nombre exact de représentants des différentes classes d'âge de la population étudiée. Aussi faut-il se contenter de résultats tels que ceux de 1962.

L'étude du taux de reproduction de cette population a révélé que c'est environ 11 Merles qui parviennent à atteindre l'âge d'un an, donc à se reproduire. La mortalité de 25% pour les mâles et de 33% pour les femelles signifie que chaque année 7 mâles et 9 femelles meurent et doivent être remplacés, si la population est stable, comme c'est ici le cas. A ces 16 disparition, il faut en outre ajouter celles de la réserve, soit environ 3. La comparaison de ces nombres montre, qu'en dépit de l'approximation des résultats,

il est très vraisemblable que la population des nicheurs et des individus de la réserve ne se maintient que par apport d'*individus venant de l'extérieur*.

Il doit donc exister des populations de Merles où le taux de reproduction est supérieur au taux de mortalité des adultes. Dans ces populations, les individus surnuméraires doivent émigrer et un certain nombre vient s'établir à Imede ou constituer la réserve du parc étudié. J'ai la preuve que certaines de ces populations en expansion se trouvent dans les environs immédiats du parc étudié. J'observe en effet à Imede, chaque année dès fin avril, des jeunes Merles venant de quitter le nid, non bagués, de plus en plus nombreux au fur et à mesure que le printemps avance. Ces jeunes « étrangers » sont particulièrement nombreux en juin-juillet, moment où les couvées de la population étudiée commencent à réussir.

#### 4. DISCUSSION

Le taux de reproduction de la population étudiée est extrêmement faible. Mais certaines caractéristiques peuvent être considérées comme normales. C'est ainsi que le taux d'éclosion de 89,4% est intermédiaire entre celui trouvé par VENABLES (1952): 84,5% et SNOW (1955b): en moyenne 91%. La grandeur de la nichée 3,2 jeunes se rapproche, quelque peu, des valeurs généralement observées: 3,34 par LACK (1949) en Grande-Bretagne; 3,74 par VERHEYEN (1953) en Belgique; 3,76 par VENABLES (1952) aux Shetland; 3,5 à 3,9 par HAVLIN (1963) en Tchécoslovaquie.

D'importantes différences apparaissent par contre lorsque l'on compare le nombre de jeunes élevés à partir de 100 œufs. LACK (1954), citant de nombreux auteurs, a mis en évidence que chez la plupart des espèces nidicoles de Passereaux nichant à « ciel ouvert », c'est-à-dire non dans des cavités, environ le 45% des œufs pondus donnait des jeunes s'envolant du nid (limites: 22% et 59%). Chez le Merle, BULL (1946) a trouvé 30%, VERHEYEN (1953) 47%, LACK (1949) 51%, STEINBACHER (1941) 58%, HAVLIN (1963) 64,5% et VENABLES (1952) un peu moins de 62%. Or, dans le parc étudié, cette proportion n'est que de 13%. Cette valeur est donc extrêmement faible. Pour l'expliquer, interviennent les constatations du chapitre de l'issue des nids, à savoir, d'une part et surtout le fort



pourcentage de nids abandonnés pendant la ponte et l'incubation, et d'autre part, l'importante destruction de couvées par des prédateurs.

Les comparaisons précédentes laissent prévoir une nouvelle différence importante concernant le nombre de jeunes élevés par couple et par saison de reproduction. Alors qu'en Grande-Bretagne LACK (1943a) a constaté 2,5 jeunes en Ecosse et 3,6 en Angleterre, STEINBACHER 5,5 jeunes à Francfort (1941) et 2,5 jeunes à Augsbourg (1953), SNOW (1958a) 4,4 jeunes dans le Jardin botanique d'Oxford et HAVLIN (1963) environ 5 en Tchécoslovaquie, je trouve à Imede 1,2 jeunes. Pourtant, de nombreuses femelles ont effectué 5, voire 6 pontes par printemps, mais les nombreuses pontes de remplacement ne compensent pas suffisamment les pertes.

Une des deux caractéristiques les plus importantes d'une population est à mon avis la mortalité des adultes, car c'est elle qui détermine également sa structure et l'espérance de vie des nicheurs (l'autre étant le taux de reproduction).

Il convient de donner un sens différent à la mortalité calculée à partir de nombreuses reprises d'oiseaux bagués et celle déterminée par d'autres méthodes dans une population déterminée et limitée. Le premier procédé concerne un ensemble de populations diverses aux caractéristiques différentes: populations de différents types de forêts, de régions buissonnantes, de parcs urbains, etc. Aussi la mortalité de cet ensemble ne correspond-elle pas à une population définie, mais représente la valeur moyenne des différentes mortalités, ce qui fait d'ailleurs son intérêt. C'est ainsi que VERHEYEN (1958) trouve une mortalité de 69% pour les adultes de Belgique, HAVLIN (1962) des valeurs allant de 64% à 40% pour les Merles adultes de Tchécoslovaquie, LACK (1943a) 42% en Grande-Bretagne et COULSON (1961) pour le même pays 44%. Ce dernier auteur met particulièrement en évidence les différences géographiques et annuelles, variant de 34% à 68%.

SNOW (1956), étudiant la population définie du Jardin botanique d'Oxford, a employé d'autres méthodes pour déterminer la mortalité des Merles, entre autres celle des contrôles visuels. Il a revu le 70% des adultes d'un printemps à l'autre. La mortalité est par conséquent égale ou inférieure à 30%, ce qui est semblable aux résultats d'Imede. Cette faible mortalité s'explique par le fait qu'il s'agit de populations sédentaires et urbaines.

La mortalité élevée des adultes pendant la période de reproduction semble être une caractéristique des populations urbaines et suburbaines. COULSON (1961) la relève chez le Merle, SUMMERS-SMITH (1956) chez le Moineau domestique (*Passer domesticus* L.). Ce dernier a constaté que le 54% de la mortalité annuelle avait lieu d'avril à juillet. J'obtiens le même résultat chez les Merles d'Imede, mais pour des raisons différentes. SUMMERS-SMITH et COULSON pensent que c'est le nourrissage des jeunes qui est à l'origine de cette forte mortalité, obligeant les parents à prendre des risques élevés pour trouver la nourriture de leur progéniture. COULSON (1960) suggère que les Etourneaux d'un an non nicheurs ont une mortalité plus faible que ceux qui se reproduisent. A Imede, où les couvées arrivant au stade de l'éclosion représentent une minorité, du moins jusqu'en juin, c'est plutôt l'ensemble des activités des individus nicheurs qui explique une élévation de la mortalité.

L'importance de la maladie comme cause de mortalité est encore très mal connue. Tout d'abord, les oiseaux trouvés morts ne constituent vraisemblablement pas un échantillon représentatif. Ensuite, le facteur « maladie » peut être soit la cause directe (voir JENNINGS 1955), soit la cause indirecte, provoquant p. ex., un affaiblissement, de la mort.

## CONCLUSIONS

Le but du présent travail a été l'étude des principales caractéristiques d'une population de Merles noirs. Je vais tenter d'établir les relations de cause à effet entre les différents facteurs étudiés.

Le parc Imede constitue un biotope idéal pour les Merles. Les grands arbres sont nombreux, le sous-bois dense, offrant de bons couverts, et les ressources alimentaires sont abondantes. La population est sédentaire, ce qui s'explique par la présence de nombreux arbres à baies et surtout par l'abondante nourriture dispensée par l'homme en hiver.

Pendant les quatre années d'observation, ce sont chaque printemps 27 à 28 couples qui se sont reproduits sur ce terrain de 6 ha aux nombreuses possibilités de nidification. La constance du nombre d'oiseaux nicheurs associée à la présence d'une importante réserve de population permet d'affirmer que le parc est saturé en couples. Cette forte densité peut être considérée comme une conséquence

directe de l'abondante nourriture disponible pendant l'hiver, les Merles restant au printemps attachés au secteur sur lequel ils ont hiverné. Cependant, je pense que la grande concentration des couples nicheurs provient surtout du biotope extrêmement favorable et de la nourriture à disposition au printemps. A Imede et dans les environs, il y a en effet de nombreux jardins avec plate-bandes variées et de grandes pelouses. Ces dernières, régulièrement tondues et souvent arrosées par temps sec, constituent de précieux réservoirs de vers de terre. A côté de cette nourriture indirectement fournie par l'homme, il ne faut pas oublier toutes les baies, graines, vers, petits arthropodes, etc. que les Merles trouvent sur leur territoire et qui constituent une part importante de leur alimentation.

Si j'ai particulièrement insisté sur les ressources alimentaires du parc, c'est que j'ai l'impression que ni le nombre des oiseaux nicheurs, ni le taux de reproduction de la population ne sont limités par la quantité de nourriture disponible. Ce point de vue est confirmé par l'existence de la réserve de population, qui se nourrit, partiellement du moins, sur les mêmes lieux que les couples, et la grande constance du nombre des oiseaux nicheurs.

Le facteur limitant le nombre de couples nicheurs est ici le comportement territorial (comme le pense aussi HINDE, 1956). Les Merles, surtout les mâles, ont en effet une territorialité bien développée et les combats, parades d'intimidation et autres rencontres sont beaucoup plus nombreux à Imede, où les territoires sont très exigus, que dans une population moins dense, sylvestre, par exemple. Aussi est-il possible que cette activité particulièrement intense perturbe le déroulement harmonieux de la biologie de reproduction du couple, en modifiant l'équilibre physiologique de la femelle. Ainsi s'expliqueraient le faible nombre d'œufs par ponte et les nombreux abandons de nids en construction et de couvées, deux fois plus importants à Imede que dans le reste de la Suisse.

L'espérance de vie élevée des Merles d'Imede, leur grande densité et le faible taux de reproduction sont une conséquence de la situation urbaine de la population. L'abondance de la nourriture, mise à disposition directement et indirectement par l'homme, tout spécialement en hiver, explique pourquoi l'âge moyen est si élevé. Une population sédentaire, se nourrissant de ressources purement « naturelles », subit des pertes hivernales bien plus importantes, tout comme une population dont les individus émigrent, la migration

imposant à l'oiseau de gros efforts et étant à l'origine d'une forte mortalité.

En dépit de la grande espérance de vie des Merles d'Imede, la population ne peut maintenir ses effectifs par son propre taux de reproduction, car ce dernier est extrêmement faible. Malgré l'abondance des prédateurs de couvées et le grand nombre de pillages qu'ils commettent, ce n'est pas à eux qu'on peut imputer le faible taux de réussite. Ce sont les nombreux abandons qui sont à l'origine de ce déficit. Comme ces abandons sont très vraisemblablement une conséquence de la grande concentration des couples, et que cette dernière provient de l'extrême richesse du milieu, nous arrivons à la conclusion que c'est en définitive le biotope extrêmement favorable et l'abondance de la nourriture qui sont à l'origine du taux de reproduction si faible de la population. Il s'agit là bien entendu d'un *raccourci schématique*, et il est vraisemblable que d'autres facteurs interviennent.

En dépit du taux de reproduction trop faible pour compenser le taux de mortalité, la densité des nicheurs est invariable. Cela est dû à l'existence de populations en expansion, déjà présentes dans les environs immédiats du parc étudié, et dont les individus surnuméraires sont attirés à Imede par le biotope et l'abondance de la nourriture.

Ces quelques remarques illustrent à quel point les conditions locales influencent les différentes composantes de la dynamique d'une population. Il est par conséquent du plus haut intérêt d'effectuer de nombreuses recherches sur les populations de la même espèce, car c'est essentiellement l'étude comparative qui permet de faire progresser nos connaissances dans ce domaine.

## RÉSUMÉ

### Chapitre Premier: *Problèmes et techniques*

1. L'étude concerne une population de Merles, étudiés pendant 4 ans dans un parc urbain de 6 ha, situé à Lausanne. Chaque printemps, 27-28 couples nicheurs ont été observés.
2. L'histoire d'un couple caractéristique de la population est décrite.

## Chapitre 2: *Le territoire*

1. Le comportement territorial est très prononcé. La surface d'un territoire oscille entre 6 et 30 a (moy. 14 a), mais le domaine vital est sensiblement plus grand.
2. Les mâles qui cherchent un territoire s'y établissent en automne ou en hiver et le conquièrent au printemps suivant.
3. La variation du comportement territorial est étudiée en fonction de l'année et du cycle de reproduction.
4. Les mâles sont plus fidèles au territoire que les femelles.
5. Une réserve de population formée d'invidus non nicheurs est observée; son comportement est étudié et l'activité de l'un de ces oiseaux est décrite.
6. Les résultats sont comparés avec ceux d'autres auteurs et le rôle du territoire est discuté.

## Chapitre 3: *La nidification*

1. La femelle est beaucoup plus active que le mâle dans la recherche d'un emplacement de nidification. La situation de quelque 350 nids est étudiée.
2. L'intervalle de temps séparant la destruction ou l'abandon d'une couvée et le premier œuf du nid suivant est relativement constant (en avril: moyenne 11 jours; en juin: moyenne 9 jours), excepté pour les nids réussis (en moyenne: 7,5 jours).
3. L'incubation dure en moyenne 12,7 jours.
4. Le nombre d'œufs par ponte est en moyenne de 3,61 et ne varie que très peu pendant le printemps.
5. Les résultats du parc sont comparés avec ceux de Suisse et d'autres populations.

## Chapitre 4: *Issue des nids*

1. 28 couvées réussies, 116 nids détruits par des prédateurs, 53 couvées abandonnées et 43 nids abandonnés avant la ponte ont été observés pendant ces 4 années.
2. Les couvées réussissent mieux en juin qu'en mars-avril.

3. Les pillages sont proportionnellement plus importants après l'éclosion (63%) qu'avant (40%).
4. Les abandons de couvées ne concernent que des pontes. Ils sont surtout fréquents au début de la saison et parmi les faibles pontes.
5. Comparée au reste de la Suisse, la prédation (dans les couvées) dans le parc étudié est normale, mais les abandons sont deux fois plus nombreux et les réussites deux fois moins.

#### Chapitre 5: *Prédateurs des couvées*

1. Par l'observation directe, seuls des Corvidés ont été vus pillant des nids.
2. Un nouveau procédé permettant l'identification des prédateurs de couvées: « l'œuf postiche » est décrit.
3. En mars-avril, les Corvidés commettent davantage de pillages que les Rongeurs (surtout l'Ecureuil, *Sciurus vulgaris* L.); en fin de saison, c'est l'inverse.
4. Discussion sur ces problèmes de prédation.

#### Chapitre 6: *Dynamique de la population*

1. Destructures et abandons mis à part, le taux d'éclosion est de 89,4%, le taux d'envol de 96%; 32 jeunes s'envolent annuellement des nids.
2. La mortalité annuelle des adultes est faible: environ 25% pour les mâles, 33% pour les femelles. La mortalité est maximum au printemps.
3. La structure de la population est étudiée.
4. Sur 100 œufs pondus, 13 seulement connaissent une issue favorable. Chaque couple produit en moyenne 1,2 jeunes par an, ce qui est vraisemblablement insuffisant pour compenser la mortalité des adultes. La population ne se maintient donc que par apport extérieur.

#### *Conclusions*

Dans le parc étudié, le biotope très favorable et l'abondante nourriture disponible ont pour conséquence une forte densité

de couples nicheurs. L'intense activité territoriale des oiseaux perturbe vraisemblablement la nidification des différents couples; aussi le taux de reproduction est-il anormalement faible.

## SUMMARY

### *The Dynamics of a population of blackbirds*

#### First Chapter: *Problems and technics*

1. The study deals with a population of blackbirds observed over a period of four years in an urban park of about 15 acres, in Lausanne. Each spring, 27-28 nest-mates were observed.
2. The history of a pair characteristic of the population is traced.

#### Chapter 2: *The territory*

1. Territorial behaviour is very marked. The area of a territory ranges from between 0,15 to 0,75 acres (average: 0,35 acres), but the living area is appreciably larger.
2. The males which are seeking a territory settle in it in autumn or winter and conquer it in the following spring.
3. The variation in territorial behaviour is studied in relation to the year and the reproduction cycle.
4. The males remain more faithful to the territory than do the females.
5. A reserve population of non-nesting individuals is observed; its general behaviour is studied and the activity of one of these birds is described.
6. The results are compared with those of other authors and the role of the territory is discussed.

#### Chapter 3: *Nidification*

1. The female is far more active than the male in the search for a nesting site. The situation of some 350 nests is studied.
2. The time lapse separating the destruction or desertion of a clutch and the first egg of the following nest is relatively constant (in April, an average of 11 days; in June, an average of 9 days), except for successful nests (on an average: 7,5 days).

3. Incubation lasts on an average 12,7 days.
4. The average clutch-size is 3,61 and varies only very little during the springtime.
5. The results of the area studied are compared with those of Switzerland and other populations.

#### Chapter 4: *Nesting success*

1. 28 successful broods, 116 nests destroyed by predators, 53 clutches deserted and 43 nests abandoned before laying, have been observed in the course of these four years.
2. Broods are more successful in June than in March-April.
3. Cases of plundering are proportionally more frequent after hatching (63%) than before (40%).
4. The cases of clutch desertion only concern eggs. They are most frequent early in the season and among scanty layings.
5. Compared with the rest of Switzerland, the plundering of clutches in the park under study is quite normal, but desertions are twice as numerous and successful issues twice as infrequent.

#### Chapter 5: *Brood predators*

1. By direct observation, only Corvidae have been seen pillaging nests.
2. A new device permitting the identification of brood predators by means of a "dummy egg" is described.
3. In March-April, the Corvidae indulge in more pillage than the Rodents (particularly the Squirrel, *Sciurus vulgaris* L.); in the late season, the reverse is true.
4. Discussion on these predation problems.

#### Chapter 6: *Dynamics of the population*

1. Apart from destructions and desertions, the hatching success is in the order of 89,4%, the fledgling success 96%; 32 fledglings leave the nests annually.
2. The annual mortality rate for adult birds is low: about 25% for males, 33% for females. Mortality is highest in the spring.



3. The structure of the population is studied.
4. Out of 100 eggs laid, only 13 experience a successful issue. Each pair rears an average of 1,2 young a year, which is probably not sufficient to make up for the mortality of the adults. The population is only maintained, therefore, by reinforcements from outside.

### Conclusions

In the park under study, the highly favourable habitat and the abundance of food available give rise to a high density of nesting pairs. The intensive territorial activity of the birds very likely disturbs the nesting of the various mating pairs; consequently the reproduction rate is abnormally low.

### BIBLIOGRAPHIE

- ALTUM, B. 1868. *Der Vogel und sein Leben*. Münster.
- BERNDT, R. 1931. *Ineinandergeschachtelte Bruten der Amsel*. Orn. Monatsb. 39: 152.
- BULL, P. C. 1946. *Notes on the breeding cycle of the Thrush and Blackbird in New Zealand*. Emu. 46: 198-206.
- COULSON, J. C. 1960. *A study of the mortality of the Starling based on ringing recoveries*. J. anim. ecol. 29: 251-272.
- 1961. *The postfledging mortality of the Blackbird in Great Britain*. Bird study. 8: 89-97.
- CREUTZ, G. 1933. *Amsel beim Nestbau*. Beitr. Fortpflanzungsbiol. Vögel. 9: 143-144.
- EPPRECHT, W. 1946. *Die Verbreitung der Amsel zur Brutzeit in Zürich*. Orn. Beob. 43: 97-105.
- GIBB, J. A. 1962. *The importance of territory and food supply in the natural control of a population of birds*. Science Review. 20: 20-21.
- GLUTZ, U. 1962. *Die Brutvögel der Schweiz*. Aarau.
- HAVLIN, J. 1962. *Age structure and mortality rate in Blackbird populations*. Zool. Listy. 11: 279-285.
- 1963. *Reproduction in the Blackbird*. Zool. Listy. 12: 195-216.
- HEYDER, R. 1931. *Amselbeobachtungen*. Mitt. Vereins Sächs. Orn. 3: 105-129.
- 1953. *Die Amsel*. Wittenberg-Lutherstadt.
- HINDE, R. A. 1956. *The biological significance of the territories of birds*. Ibis. 98: 340-369.
- JACKSON, R. D. 1954. *Territory and pair-formation in the Blackbird*. Brit. birds. 47: 123-131.

- JENNINGS, A. R. 1955. *Diseases in wild birds*. Bird study. 2: 69-72.
- KLUIJVER, H. N. 1951. *The population ecology of the Great Tit*. Ardea. 39: 1-135.
- LACK, D. 1943a. *The age of the Blackbird*. Brit. birds. 36: 166-175.
- 1943b. *The Life of the Robin*. London.
- 1947. *The signification of clutch-size*. Ibis. 89: 302-352.
- 1949. *Family size in certain Thrushes*. Evolution. 3: 57-66.
- 1954. *The natural regulation of animal numbers*. Oxford.
- LACK, D. and LIGHT, W. 1941. *Notes on the spring territory of the Blackbird*. Brit. birds. 35: 47-53.
- LIND, H. 1955. *Bidrag til Solsortens biologi*. Dansk. ornith. Forenings tidssk. 49: 76-108.
- MILDENBERGER, H. 1940. *Zu geringe Eizahlen in Amselgelegen*. Ornith. Monatsb. 48: 42-46.
- MOFFAT, C. B. 1903. *The spring rivalry of birds*. Irish naturalist. 12: 152-166.
- MOHR, E. 1950. *Die freilebenden Nagetiere Deutschlands*. Iena.
- RIBAUT, J. P. 1961. *Un nouveau moyen pour étudier la prédation dans les nichées: l'œuf postiche*. Rev. suisse Zool. 68: 238-241.
- SNOW, D. W. 1955a. *The abnormal breeding of birds in the winter 1953-1954*. Brit. birds. 48: 120-126.
- 1955b. *The breeding of Blackbird, Song thrush and Mistle thrush in Great Britain, part III, nesting success*. Bird study. 2: 169-178.
- 1956. *Territory in the Blackbird*. Ibis. 98: 438-447.
- 1958a. *The breeding of the Blackbird*. Ibis. 100: 1-30.
- 1958b. *A study of Blackbirds*. London.
- STEINBACHER, G. 1941. *Beobachtungen über das Verhalten und insbesondere über die Brutbiologie von Stadtamseln*. Beitr. Fortpflanzungsbiol. Vögel. 17: 153-161.
- 1953. *Zur Biologie der Amsel*. Biol. Abhand. Heft 5.
- STEWART, R. E. and ALDRICH, J. W. 1951. *Removal and repopulation of breeding birds in a spruce-fir forest community*. Auk. 68: 471-482.
- SUMMERS-SMITH, D. 1956. *Mortality of the House sparrow*. Bird study. 3: 265-270.
- VAN'T SANT, L. 1921. *Statistische Onderzoekingen betreffende het Aantal Eiern per Broedselbij Merel, Zanglijster en Grote Lijster*. Ardea. 10: 27-32.
- VENABLES, L. S. V. and U. M. 1952. *The Blackbird in Shetland*. Ibis. 94: 636-653.
- VERHEYEN, R. 1953. *Etude statistique relative à la biologie de nos 3 Grives indigènes*. Le Gerfaut. 43: 231-261.
- 1958. *A propos de l'âge moyen des Merles*. Le Gerfaut. 48: 6-15.









BULLETIN-ANNEXE  
DE LA  
REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

---

1964

---

JAHRESVERSAMMLUNG  
der Schweizerischen Zoologischen Gesellschaft

abgehalten in Zürich, am 11. und 12. April 1964  
unter dem Vorsitz von

**Prof. Dr. H. Ulrich**

---

GESCHÄFTSSITZUNG

**Samstag den 11. April 1964, 13.00 Uhr**

im Zoologischen Institut der Eidg. Technischen Hochschule

Der Präsident begrüsst die Anwesenden und gibt seiner Freude darüber Ausdruck, dass die Gesellschaft das Zoologische Institut der Eidg. Technischen Hochschule mit ihrem Besuch beehrt.

1. BERICHT DES PRÄSIDENTEN FÜR DAS JAHR 1963

*Mitgliederbestand.*

Ende Dezember 1963 zählte unsere Gesellschaft 253 Mitglieder. 4 Austritten stehen 7 Neuaufnahmen gegenüber. Für heute haben sich 38 neue Mitglieder angemeldet. Durch den Tod verloren wir 4 Mitglieder: Im Frühjahr 1963, kurz vor unserer Tagung in Genf, verstarb Herr Prof. Dr. E. Guyénot, Genf; bereits vorher verstarben die Herren Prof. Dr. H. Bluntschli, Bern, Dr. V. Vonwiller, Lancy, und Prof. Dr. E. Wettstein, Zürich.

*Wissenschaftliche Tätigkeit.*

Am 30. und 31. März fand in Genf unter dem Vorsitz von Herrn Prof. Dr. M. Fischberg die Jahresversammlung statt. Herr Prof.

Dr. L. N. Ruben, Genf und Portland (Oregon), hielt den Hauptvortrag über „Lucké carcinoma implants in regenerating and regressing urodele limbs“; ausserdem wurden 19 Kurzvorträge gehalten.

Die Herbstversammlung fand am 31. August im Rahmen der Tagung der Schweiz. Naturforschenden Gesellschaft in Sitten statt. An der gemeinsam mit der Schweiz. Entomologischen Gesellschaft durchgeführten Sektionssitzung wurden 6 Referate gehalten und ein Film gezeigt.

#### *Revue Suisse de Zoologie.*

Es erschienen Heft 4 des Bandes 69 und die Hefte 1 und 2 des Bandes 70 mit insgesamt 30 Arbeiten auf 532 Seiten.

Die *Revue suisse de Zoologie* erhielt wiederum einen Bundesbeitrag von Fr. 4.500.— sowie Fr. 600.— von unserer Gesellschaft.

#### *Subventionen.*

Ausser diesem Beitrag an die *Revue Suisse de Zoologie* richtete unsere Gesellschaft 2 gegenüber früher ausnahmsweise erhöhte Subventionen von je Fr. 450.— an die Vogelwarte Sempach und an die Schweizerische Forschungsstation Adiopodoumé aus.

#### *Zoologische Station Neapel und Biologische Station Roscoff.*

Der schweizerische Arbeitsplatz an der Zoologischen Station Neapel wurde im Berichtsjahr von der Arbeitsgruppe Prof. Baltzer/Prof. Chen (Bern/Zürich) in der Zeit vom 9. März—16. Mai benutzt. Es wurden die Untersuchungen über Nukleinsäuren bei Seeigel-Bastarden fortgesetzt. Vom 7.—21. April benutzte Prof. P. Tardent (Zürich) den Arbeitsplatz zur Fortsetzung seiner Regenerationsstudien an Hydroiden und zum Sammeln von Material. Vom 8. Juli—5. August arbeitete Dr. H. Eymann (Bern) allgemein faunistisch und speziell über decapode Crustaceen in Neapel.

Der schweizerische Arbeitsplatz an der Biologischen Station Roscoff wurde vom 1.—27. Juli durch PD Dr. Richterich (Bern) benutzt. Er führte biochemische Studien an Wirbellosen durch. Wie bereits früher, durften wiederum zwei schweizerische Studentinnen an den einführenden Sommerkursen teilnehmen.



*Station ornithologique de Sempach.*

En 1963, la Station ornithologique suisse a déployé, comme les années précédentes, une activité très considérable. Les tâches deviennent toujours plus nombreuses, et la Station possède maintenant un administrateur, ce qui permet au personnel scientifique de se vouer à ses véritables travaux.

En 1963, 45.000 oiseaux ont été bagués, dont 8.240 à Bretolet s/Champéry; parmi ces dernières captures, il y a 1.200 Bec-croisés. Depuis 1953, ce sont quelque 80.000 oiseaux qui ont été bagués sur ce col. A côté de l'exploitation du matériel de baguement en général, ce sont surtout les questions écologiques qui préoccupent la Station. Leur résolution permet une protection efficace des espèces menacées par la conservation de biotopes adéquats. Le « Livre des oiseaux nicheurs de Suisse » a connu un tel succès, qu'une deuxième édition est en cours. 11.000 m<sup>2</sup> de terrain attenant à la Station ont été achetés, donnant ainsi la possibilité d'une extension future.

Les comptes de 1963 terminent par un déficit de 4.000 francs. Des démarches ont été entreprises auprès de la Confédération et des cantons pour qu'ils augmentent leur contribution annuelle. L'écho enregistré permet d'attendre une réponse favorable.

*Centre Suisse de recherches scientifiques en Côte-d'Ivoire.*

La maison du directeur a pu être améliorée par l'adjonction d'une chambre et le laboratoire a été maintenant entièrement climatisé. Vu que les chercheurs mariés ne peuvent plus séjourner à l'hôtel des étudiants à Adiopodoumé, un bungalow a été construit dans notre concession pour éviter que les couples mariés soient obligés de loger à Abidjan.

Les recherches du directeur sur la micro-paléontologie des lagunes se poursuivent. Un botaniste et sa femme séjournent dans le bungalow.

Une augmentation marquée de la subvention fédérale est prévue dès 1964 et certains cantons ont également augmenté leur contribution, ce qui permet maintenant de préparer des budgets mieux équilibrés.

Dans le courant de l'année, la Commission a perdu un de ses membres, le professeur E. Gäumann. Pour remplacer ce dernier,

elle a fait appel au professeur H. Ellenberg de Zurich et au professeur H. J. Huggel de Genève. Ce dernier assumera désormais la fonction de trésorier.

Une fois encore, le professeur J. G. Baer exprime la déception de la Commission devant le très petit nombre de jeunes zoologistes qui travaillent à Adiopodoumé. Il n'y a aucun autre lieu où des recherches en zones tropicales puissent être entreprises dans des conditions aussi favorables tant scientifiques que matérielles.

### *Schweizerischer Nationalpark.*

Im Jahre 1963 haben fünf Zoologen Forschungen im Nationalpark durchgeführt. Dank einem Stipendium der baslerischen Schulbehörden konnte W. Eglin seine faunistischen Studien über die Neuropteren und Mecopteren unseres Reservates beenden. K. Deuchler konnte bei einem dritten Nationalparkaufenthalt die Studien zu seiner Doktorarbeit über die Kleinsäuger des Nationalparks abschliessen. Mit Hilfe des Nationalfonds hat R. Schloeth seine interessanten Untersuchungen über die Oekologie des Hirsches während des ganzen Jahres fortgesetzt. Das Total der seit dem Winter 1959/60 markierten Hirsche erreichte im Sommer 1963 die Zahl 163, wovon zwei Drittel noch vorhanden waren. Die Herren W. Sauter und S. Blattner studierten weiterhin die Lepidopterenfauna. Im Berichtsjahr wurde keine zoologische Arbeit über den Nationalpark publiziert.

## 2. BERICHT DES KASSIERS

### *Bilanz vom 31. Dezember 1963*

<i>Aktive:</i>			<i>Passive:</i>	
Kasse	26,40	Saldo	6.649,82	
Postcheckkonto	1.435,92			
Bank	5.187,50			
	<u>6.649,82</u>			<u>6.649,82</u>
Kapital am 31. Dezember 1962			6.437,57	
Kapitalvermehrung			212,25	
Kapital am 31. Dezember 1963			<u>6.649,82</u>	

*Gewinn- und Verlustrechnung 1963*

*Einnahmen:*

Jahresbeiträge . . . . .	2.395,75
Bundessubvention . . . . .	4.500.—
Zinsen . . . . .	123,05
	<hr/>
	7.018,80
	<hr/>

*Ausgaben*

Bundessubvention an <i>Revue suisse de Zoologie</i> . .	4.500.—
Subvention S.Z.G. an <i>Revue suisse de Zoologie</i> . .	600.—
Subvention S.Z.G. an Vogelwarte Sempach . .	450.—
Subvention S.Z.G. an Forschungsstation Adiopo-	
doumé . . . . .	450.—
Separatabzüge <i>Revue suisse de Zoologie</i> . . . . .	350.—
Spesen . . . . .	456,55
Saldo Kapitalvermehrung . . . . .	212,25
	<hr/>
	7.018,80
	<hr/>

Der Kassier: H. D. VOLKART

3. BERICHT DER RECHNUNGSREVISOREN

Die Unterzeichneten revidierten heute die Rechnung 1963 der Schweizerischen Zoologischen Gesellschaft. An Hand der vorgelegten Belege prüften wir die Buchführung und stellten volle Übereinstimmung mit den im Kassabericht aufgeführten Angaben fest. Das Vermögen der Gesellschaft wurde uns mit Bankbuch, Konto-  
beleg und Kasse nachgewiesen.

Wir möchten deshalb der Generalversammlung beantragen, dem Kassier Entlastung zu erteilen, unter bester Verdankung seiner geleisteten Arbeit.

Basel, den 9. Januar 1964.

Die Rechnungsrevisoren:

H. NUESCH      M. REIFF

#### 4. BUDGETVORSCHLAG FÜR 1964

Da sich das Kapital unserer Gesellschaft auch im verflossenen Jahr vermehrt hat, kann von einer Erhöhung der Jahresbeiträge abgesehen werden. Wenn wir bei Fr. 14.— und 7.— bleiben, kann folgendes Budget vorgeschlagen werden:

##### *Einnahmen*

Jahresbeiträge . . . . .	2.300.—
Bundessubvention . . . . .	4.500.—
Zinsen . . . . .	120.—
	<hr/>
	6.920.—
	<hr/>

##### *Ausgaben*

Bundessubvention an <i>Revue suisse de Zoologie</i> . .	4.500.—
Subvention S.Z.G. an <i>Revue suisse de Zoologie</i> . .	600.—
Subvention S.Z.G. an Vogelwarte Sempach . .	450.—
Subvention S.Z.G. an Forschungsstation Adiopo-	
doumé . . . . .	450.—
Separatabzüge <i>Revue suisse de Zoologie</i> . . . .	450.—
Spesen . . . . .	470.—
	<hr/>
	6.920.—
	<hr/>

Die Versammlung genehmigt die Rechnung 1963 und das Budget 1964 und dankt dem Kassier und den Rechnungsrevisoren für die geleistete Arbeit.

#### 5. AUFNAHME NEUER MITGLIEDER

Als neue Mitglieder werden folgende Damen und Herren aufgenommen: Jacques Altmann, cand. phil., Zürich; Gerhard Bächli, stud. phil., Zürich; Hansjakob Bosshard, cand. phil., Feldmeilen; Hans Briegel, cand. phil., Zürich; Paul Buol, stud. phil., Zürich; René Camenzind, dipl. Natw. ETH, Zürich; Cäsar Claude, stud. phil., Zürich; Walter Dahinden, stud. phil., Luzern; Klaus Deuchler, cand. phil., Zürich; Rainer Eigenmann, cand. phil., Basel; Frl. Sofie

Fleischlin, stud. phil., Zürich; Walter Gehring, cand. phil., Zürich; Frl. Anneliese Grassmann, cand. phil., Zürich; Walter Hangartner, stud. phil., Schaffhausen; Dr. J. Hasenfuss, Fribourg; Andreas Kühner, cand. phil., Aathal-Seegräben; Erich Kunz, cand. phil., Ettingen; PD Dr. G. Lampel, Fribourg; Charles Maquelin, dipl. ing. agr. ETH, Forch; Frl. Ruth Meili, stud. phil., Zürich; Claude Mermoud, lic. sci., Lausanne; Mindek, Geza, cand. phil., Zürich; Peter Munz, cand. phil., Zürich; Urs Petermann, dipl. Natw. ETH, Zürich; Dr. Wolfgang Pfeiffer, Langnau a.A.; Peter Remensberger cand. phil., Zürich; Ulrich Ryser, stud. phil., Zürich; Dietrich A. von Schenk, cand. phil., Basel; Frau Annemarie Schneider-Minder, dipl. Natw. ETH, Zürich; Gerold Schubiger, cand. phil., Zürich; Christoph Singeisen, cand. phil., Zürich; Prof. Dr. Fritz Slowik, Zürich; Werner Spinner, cand. phil., Rümlang; Werner Spring, dipl. Natw. ETH, Zürich; Frl. Margrit Staub, cand. phil., Zürich; Heinz Tobler, cand. phil., Zürich; Dirk Went, cand. Natw., Zürich; Dr. Vinzenz Ziswiler, Zollikon; Dr. Max Tanner, Zürich; Klaus Weber, cand. phil., Zürich.

#### 6. WAHL DES NEUEN VORSTANDES

Durch Akklamation wird folgender Vorstand für 1964/65 gewählt:

Präsident: Prof. Dr. J. Kälin  
Vizepräsident: Dr. O. Büchi  
Sekretär: PD Dr. G. Lampel

#### 7. WAHL DES KASSIERS UND DER RECHNUNGSREVISOREN

Der Kassier, Dr. H. D. Volkart, und die Rechnungsrevisoren, Prof. Dr. H. Nüesch und PD Dr. M. Reiff, werden für ein weiteres Jahr in ihrem Amte bestätigt.

#### 8. VERSCHIEDENES

Unser Ehrenpräsident, Prof. Baltzer, beging am 12. März seinen 80. Geburtstag. Wegen eines Forschungsaufenthaltes in Neapel kann er nicht an der Jahresversammlung teilnehmen. In einem Brief dankt er der Gesellschaft für die ihm gesandten Glück-

wünsche und für das ihm gewidmete Heft der *Revue suisse de Zoologie*.

An einer Informationstagung der UNESCO am 29. April 1964 in Fribourg soll Herr Prof. Baer unsere Gesellschaft vertreten. Prof. Ulrich gibt ein Schreiben der Nationalen Schweizerischen UNESCO-Kommission über die technische Zusammenarbeit mit Entwicklungsländern bekannt.

#### WISSENSCHAFTLICHE SITZUNGEN

Samstag, 11. April

14.15 Uhr: Mitteilungen:

- J. KÄLIN (Fribourg): Zur evolutiven Deutung des Extremitäten-Typus bei Pongiden und Hominiden.
- H. MISLIN und R. KRAUSE (Mainz): Die elektrische Herzaktivität bei der Schlagumkehr von *Ciona intestinalis*.
- HR. HÄFELFINGER (Basel): Fussbewegung und Eingrabvorgang bei Pteroiden (Film).
- E. ERNST (Basel): Bemerkungen zu den Soldaten von *Acantho-termes acanthothorax* Sj. (Isoptera).
- E. RUPPLI und M. LÜSCHER (Bern): Die Elimination von Ersatzgeschlechtstieren bei der Termiten *Kaloterme flavicollis* (mit Film).
- F. SCHNEIDER (Wädenswil): Die Beeinflussung der ultraoptischen Orientierung des Maikäfers durch Veränderung des lokalen Massenverteilungsmusters.

17.00 Uhr: Hauptvortrag:

Prof. Dr. J. ASCHOFF (Seewiesen und Erling-Andechs, Deutschland):  
*DIE TAGESPERIODIK*  
*LICHT- UND DUNKELAKTIVER TIERE.*

Sonntag, 12. April

8.15 Uhr: Mitteilungen:

- K. DEUCHLER (Zürich): Neue Fledermausfunde aus Graubünden.
- E. SUTTER (Basel): Zum postembryonalen Wachstum des Telegallahuhns (Megapodidae).

- E. KUNZ und M. REIFF (Basel): Wachstum und Nahrungsauswertung coeektomierter Ratten.
- R. EIGENMANN (Basel): Biochemische Untersuchung der Flugmuskulatur von *Antheraea pernyi* (Lep.).
- E. HADORN, P. REMENSBERGER und H. TOBLER (Zürich): Autonomie in der Hodenentwicklung und Dissoziation von Chemogenese und Histogenese bei *Drosophila melanogaster*.
- R. WEBER (Bern): Elektronenmikroskopische Beobachtungen über die Rückbildung der Schwanzmuskulatur in metamorphosierenden Kaulquappen.
- R. MATTHEY (Lausanne): Mutations chromosomiques et spéciation. — Les systèmes polymorphes dans le sous-genre *Leggada* Gray (*Mammalia*, *Muridae*).
- J. SEILER (Zürich): Biologische und cytologische Beobachtungen zum Übergang von der diploiden zur tetraploiden Parthenogenese.
- E. HADORN und A. GARCIA-BELLIDO (Zürich): Zur Proliferation von *Drosophila*-Zellkulturen im Adultmilieu.
- G. de HALLER (Genève): Anomalie de la stomatogenèse, provoquée par irradiation UV chez *Paramaecium aurelia*.

An beiden Tagen waren Demonstrationen aus der Forschungsarbeit des Zoologischen und des Entomologischen Institutes der E.T.H. ausgestellt; sie wurden namentlich während der Pausen besichtigt, in denen auf Einladung des Präsidenten des Schweiz. Schulrates Erfrischungen offeriert wurden.

Am Samstag, 18,30 Uhr, besichtigten wir unter Führung von Prof. Hediger Aktualitäten im Zoo. Anschliessend offerierten der Regierungsrat des Kantons Zürich und der Stadtrat von Zürich im Restaurant „Morgensonne“ beim Zoo ein Abendessen, an dem mehr als 100 Mitglieder und Gäste teilnahmen. Herr Regierungsrat A. Günthart, Polizeidirektor, begrüßte als Vertreter von Kanton und Stadt die Tagungsteilnehmer. Prof. Ulrich dankte für die Einladung, begrüßte insbesondere den Rektor der Universität Zürich. Prof. Hadorn, seinen Lehrer und Amtsvorgänger, Prof. Seiler, sowie die Gäste aus Deutschland, Prof. Ankel und Prof. Aschoff, und berichtete über die Geschichte der Zoologie an der Eidg. Technischen

Hochschule. Prof. Bovey begrüßte sodann speziell die Damen und sprach über die Geschichte des Entomologischen Institutes der E.T.H.

Die Jahresversammlung schloss am Sonntag mit einem gemeinsamen Mittagessen im Bahnhofsbuffet; der neu gewählte Präsident, Prof. Kälin, dankte dem Zürcher Vorstand für seine Arbeit und lud zur nächsten Jahresversammlung in Fribourg ein.

Der Jahresvorstand:

H. ULRICH, *Präsident*.

P. BOVEY, *Vizepräsident*.

G. BENZ, *Sekretär*.



# LISTE DES MEMBRES

## DE LA

### SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

Juillet 1964

---

#### Président d'honneur:

BALTZER, F., Prof. Dr., Zoolog. Institut, Sahlistr. 8, Bern.

#### A. Membres à vie:

\*NÆF, R.-M., Blümli matt, Thun.

\*SCHOTTÉ, Oscar Prof. Dr., Dept. of Biology, Amherst College, Amherst Mass., U.S.A.

#### B. Membres ordinaires:

AELLEN, Willy, Dr., Muséum d'Histoire naturelle, Genève.

AEPPLI, L., Frl., dipl. phil., Stellimattweg 10, Riehen, BS.

AESCHLIMANN, A., Dr., Schweiz. Tropeninstitut, Socinstrasse 57, Basel.

ALTHERR, E., Dr., prof. au Collège, Aigle (Vaud).

<sup>1)</sup> \*ALTMANN, Jaques, cand. phil. II, Rietstrasse 25, Erlenbach (Zürich).

\*AMMANN, Hans, Dr., Brittnauerstrasse 6, Zofingen

\*ANDERS, Gebrges, Prof. Dr., Nonnerweg 7, Haren-Groningen (Niederlande).

\*ANDERS-UCHER, Nelly, Fr. Prof., Nonnerweg 7, Haren-Groningen (Niederlande).

ANDRES, Gert, Pd. Dr., Zool. Institut, Universität, Mainz (Deutschland).

AUBERT, J., Dr., Musée zoologique, Lausanne.

\*AUBERT, S., Prof., av. Fraisse, 12, Lausanne.

\*AUF DER MAUR, Paul, Dr., Sulgenauweg 16, Bern.

<sup>1)</sup> \*BÄCHLI, Gerhard, stud. phil. II, Glaubtenstr. 8, Zürich 46.

\*BADER, C., Dr., Naturhistorisches Museum, Augustinergasse, Basel.

BAER, J. G., Prof. Dr., Institut de Zoologie, Université, Neuchâtel.

BALLS, Michael, Dr., Station de Zoologie expérimentale, 154, route de Malagnou, Genève.

BÄSCHLIN, C., Dr., Seminarlehrer, Kirschgartenweg, Aarau.

BAUMANN, J. A., Prof. Dr., Ecole de Médecine, Genève.

BAUMEISTER, L., Dr., St. Gallerring 87, Basel.

BEAUMONT (DE), J., Prof. Dr., Musée zoologique, Lausanne.

\*BECKER, Renate, Frl. Dr., Pfirtergasse 12, Basel.

\*BENZ, G., Dr., Entomologisches Institut, E.T.H., Zürich.

\*BERGER, Heinz, Gymnasiallehrer, Spitzwaldstr. 157, Neuallschwil BL.

BERNASCONI, Antonio Dr., Prof. a.d. Kantonsschule, Matthofring 11, Luzern.

BESUCHET, C., Dr., Muséum d'Histoire naturelle, Genève.

BINDER, E., Dr., chargé de cours, Muséum d'Histoire naturelle, Genève.

\*BISCHLER, V., Mlle., Dr., 16, plateau de Champel, Genève.

BLACKLER, Anthony William, Prof. Dr., Station de Zoologie expérimentale, 154, route de Malagnou, Genève.

BLOCH-WEIL, S., Frau, Dr., Steinenring 19, Basel.

\*BOLLINGER, Arno, dipl. Zool., Schützengraben 38, Basel.

\*BÖNI-GEIGER, A., Dr., Gymnasiallehrer, In den Klosterreben 15, Basel.

BOPP, Peter, Dr., Glaserbergstr. 82, Basel.

<sup>1)</sup> \*BOSSHARD, Hansjakob, cand. phil. II, im Tobel 52, Feldmeilen, ZH.

\*BOVET, Jacques, P.-D. Dr. ès sc., Institut de Zoologie de l'Université, Lausanne.

\*BOVET, Jaques, cand. phil., Institut de Zoologie, Université, Neuchâtel.

BOVEY, P., Prof. Dr., Entomolog. Institut E.T.H., Zürich 6.

BOVEY, René, Dr., Prangins (Vaud).

BRETSCHER, Alfred, Dr., Sekundarlehrer, Grüneckweg 14, Bern.

<sup>1)</sup> \*BRIEGEL, Hans, cand. phil. II, Heideggerweg 20, Zürich 50.

\*BRITSCHGI, H., Heinrich Wirrstr. 10, Aarau.

\*BRUHIN, Herbert, Dr., Äussere Baselstr. 225, Riehen, Basel.

\*BRUNOLD, E., Frl., Dr., Kirchgasse 18, Münchenbuchsee (Bern).

BÜCHI, Othmar, Dr., Conservateur du Musée d'hist. nat. Fribourg, 60 Vignettaz, Fribourg.

<sup>1)</sup> \*BUCK, Dieter, cand. phil., Alpenstrasse 130, Schaffhausen.

<sup>1)</sup> \*BUOL, Paul, cand. phil. II, Reinhardstr. 12, Zürich 8.

BURCKHARDT, Dietrich, Dr., Adlerstrasse 12, Basel.

BURLA, Hans, Prof. Dr., Zoolog. Museum der Universität, Zürich 6.

\*CAMENZIND, René, dipl. Natw. ETH, Schaffhauserstr. 6, Zürich 6.

\*CHAROLLAIS, Etienne, Dr., ing. chim., 1, place du 1<sup>er</sup> août, Grand-Lancy, Genève.

CHEN, Pei-Shen, Prof. Dr., Zoologisches Institut, Universität, Zürich 6.

<sup>1)</sup> \*CLAUDE, Cäsar, cand. phil. II, Chorgasse 9, Zürich 1.

<sup>1)</sup> \*DAHINDEN, Walter, stud. phil. II, Schädritstr. 32, Luzern.

\*DELLA SANTA, Ed., professeur au Collège, 11, route de Suisse, Versoix, Genève.

<sup>1)</sup> DEUCHLER, Klaus, cand. phil. II, Ackersteinstr. 144, Zürich 49.

DOHRN, Peter, Dr., Stazione zoologica, Napoli, Italia.

DOTTRENS, E., Dr., Directeur du Muséum d'Histoire naturelle, Genève.

\*DROIN, Anne, Mlle, Dr., Station de Zoologie expérimentale, 154, route de Malagnou, Genève.

- Du Bois, A.-M., Mlle., Dr., Laboratoire d'histologie, Ecole de médecine, Genève.
- DUBOIS, G., Dr., Grand'Rue 12, Corcelles, Neuchâtel.
- 1) \*EIGENMANN, Rainer, cand. phil., Zoolog. Anstalt der Universität, Basel.
- EMCH, Monique, M<sup>lle</sup>, Clinique dermatologique de l'hôpital cantonal, Lausanne.
- \*ENGELMANN, F., Dr., Zoologisches Institut der Johannes Gutenberg-Universität, Mainz, Deutschland.
- ERNST, Eberhard, Dr., Dürrenmattweg 84, Neuallschwil (Basel-Land).
- ESCHER, K., Prof. Dr., Hinterbergstr. 68, Zürich 7/44.
- \*EYMANN, Hermann, Dr., Schwarzenburgstr. 222, Liebefeld (Bern).
- FAES, H., Dr., anc. directeur Station fédérale essais viticoles, Montagnibert, Lausanne.
- FANKHAUSER, G., Prof. Dr., Dept. of Zoology, Princeton University, Princeton, N.J., U.S.A.
- FERRIÈRE, Ch., Dr., 57 route de Florissant, Genève.
- \*FIEDLER, Walter, Dr., Tiergarten Schönbrunn, Wien XIII.
- \*FINSINGER, Franz, Dr. phil., Glockenstrasse 17, Bern.
- \*FISCHBERG, Michael, Prof. Dr., Institut de Zoologie, Université, Genève.
- 1) \*FLEISCHLIN, Sofie, Frl., stud. phil. II, Zürichbergstr. 88, Zürich 7/44
- \*FLORIN, J., Dr., Haldenstrasse, Kronbühl (St. Gallen).
- FLÜCKIGER, Edward, P. D. Dr., Im Marteli 9, Binningen (Basel-Land).
- FORCART, L., Dr., Naturhist. Museum, Augustinergasse, Basel.
- \*FRANK, Rudolf, Gymnasiallehrer, Birmensdorferstr. 155, Zürich 3/36.
- FREYVOGEL, Dieter, Dr., P.D., Hauptstr. 111, Arisdorf, BL.
- \*FRITZ, Walter, Dr., Grenzacherweg 128, Riehen (Basel).
- FRITZ-NIGGLI, Hedi, Frau, Prof. Dr., Bellariairain 2, Zürich 38.
- GACOND, René, stud. phil., 53 Valangines, Neuchâtel.
- GALLÉRA, J., Dr., Institut d'Anatomie, Ecole de Médecine, Genève.
- \*GANDER, Ralf, Dr., Weedstrasse 1030, Heerbrugg (St. Gallen).
- 1) \*GAST, Rolf, cand. phil., Muesmattstr. 40, Bern.
- 1) \*GEHRING, Walter, cand. phil. II, Luegislandstr. 576, Zürich 51.
- \*GEIGER, Hansruedi, Dr., Schönenbergstrasse 72, Wädenswil (Zürich).
- GEIGER, Wolfgang, Dr., Laboratoire d'Anatomie et de Physiologie comparées, Université, Genève.
- GEIGY, R., Prof. Dr., Riehenstr. 394, Basel.
- GERBER, A., Dr., Zur Gempfenfluh 64, Basel.
- GIHR, Margrit, Frl., Dr., Hirnforschungsinstitut, Neustadt (Schwarzwald).
- \*GISI, Julie, Frl., Dr., Dornachstr. 10, Arlesheim (Basel-Land).
- GISIN, Hermann, Dr., Muséum d'Histoire naturelle, Genève.
- \*GLOOR, H., Prof. Dr., Genetisch Instituut, Leyden (Nederl.).
- \*GLUTZ, Urs, Dr., Schweiz. Vogelwarte, Sempach.
- \*GÖHRINGER, Rudolf, Dr. INCEPA Ltd. Caixa postal 1386, Curitiba, Parana, Brasilien.

\*GRABER, Hans, Dr., Auf der Bürglen, Grüningen (Zürich).

<sup>1)</sup> \*GRASSMANN, Anneliese, FrL., cand. phil. II, Freiestr. 122, Zürich 7/32.  
GROBE, Dorrit, FrL., Dr., Zoolog. Anstalt, Basel.

GUÉNIN, H.-A., Prof. Dr., Institut de Zool., Université, Lausanne.

HADORN, E., Prof. Dr., Zoolog. Institut, Universität, Zürich 6.

HAEFELFINGER, H. R., Dr., Alemanengasse 84, Basel.

HALLER (DE), G., P.D. Dr., Institut de Zoologie, Université, Genève.

HALLER, P. H., Dr., Sempacherstr. 61, Basel.

HÄMMERLI-BOVERI, Victoire, Frau, Dr., Ottostr. 20, Chur.

\*HANDSCHIN, Gert, Dr., c/o Bertschmann, Klingenthalstrasse 89, Basel.

<sup>1)</sup> \*HANGARTNER, Walter, stud. phil. II, Hintergasse 4, Schaffhausen.

\*HASENFUSS, J., Dr., Zoologisches Institut der Universität, Fribourg.

HAUSCHTECK, Elisabeth, FrL. Dr., Schützengasse 4, Zürich 1.

<sup>1)</sup> \*HAUSER, Rudolf, cand. phil., Oberer Aareggweg 41, Bern.

HEDIGER, H., Prof. Dr., Ackermannstr. 14, Zürich.

\*HENZEN, Markus, Gymnasiallehrer, Looserstr. 6, Wabern/Bern.

\*HENZEN, W., Dr., Gymnasiallehrer, Spitalackerstr. 9, Bern.

<sup>1)</sup> \*HEUSSER, Rudolf, cand. phil. Zoologisches Institut der Universität, Zürich.

\*HODLER, Felix, Dr., Sek.-Lehrer, Tannackerstr. 56, Gümligen (Bern).

HOFFMANN, Lukas, Dr., Tour du Valat, par Le Sambuc, B.d.Rh., France.

HOFSTETTER-NARBEL, Marguerite, Mme, P.D., Dr., Petit-Chêne 18, Lausanne.

\*HONEGGER, René, biol.-Assistent, Zoologischer Garten, Zürich.

\*HUBER, A., Dr., Gymnasiallehrer, Holeletten 20, Basel.

HUBER, W., P.D., Dr., Naturhistorisches Museum, Bernastrasse 15, Bern.

HUGGEL, Hansjörg, Prof. Dr., Institut d'Anatomie comparée, Université Genève.

\*INHELDER, E., Dr., Zürichbergstr. 72, Zürich 7/44.

JENNI, Werner, Dr., Bahnhofstr. 2, Liestal, BL.

<sup>1)</sup> \*JUNGEN, Hans, Zoologisches Museum, Universität, Zürich.

KÄELIN, J., Prof. Dr., Institut de Zoologie, 24 Pérolles, Fribourg.

KEISER, Fred., Dr., Marschalkenstr. 78, Basel.

KIORTSIS, Vassilios, Prof., Dr., Laboratoire et Musée Zoologique, Université d'Athènes (Grèce).

\*KOCH, Joseph, Löbernstr. 41, Zug.

<sup>1)</sup> \*KOCH, Rudolf, cand. phil., Habühlstrasse 906, Herrliberg (Zürich).

KOCHER, Cl., Dr., Aeussere Baselstrasse 96, Riehen (Basel).

KOCHER, Walter, Dr., Heiligenberg-Institut, 7799 Heiligenberg b. Bodensee (Deutschland).

KRAUS, Carola, FrL., Dr., Hirnforschungs-Institut, Neustadt, Schwarzwald (Deutschland).

KREBSER, W., Buchhändler, Thun.

KÜENZI, W., Dr., Direktor, Naturhistorisches Museum, Bern.

<sup>1)</sup> \*KÜHNER, Andreas, cand. phil. II, Kirchplatz 2, Aathal-Seegräben, ZH.

KUMMER, H., Dr., Gartendörfli 8, Langnau a.A. (Zürich).

<sup>1)</sup> \*KUNZ, Erich, cand. phil. II, Gempenstr. 4, Ettingen, BL.

<sup>1)</sup> \*KUNZ, Yvette, M<sup>lle</sup>, Zoologische Anstalt, Basel.

\*KÜRSTEINER, Rico, Dr., Zelgstr. 3, Rorschacherberg (St. Gallen).

<sup>1)</sup> \*KURT, Fred, cand. phil., Zoologisches Institut der Universität Zürich.

\*LAMPEL, G., P.D. Dr., Zoolog. Institut der Universität, Fribourg.

\*LANG, Ernst M., Dr. med. vet., Zoolog. Garten, Basel.

LEHMANN, F. E., Prof. Dr., Kuhnweg 10, Bern.

<sup>1)</sup> \*LEUTHOLD, Reinhard, cand. phil., Feldschützenweg 1, Biel.

\*LIBERT, Odette, Hermance (Genève).

\*LINDENMANN, Walter, Dr., Bruckfeldstr. 8, Münchenstein, BL.

LOOSLI, Rolf, Dr., Rebhaldenweg 133, Seltisberg, BL.

LOTMAR, Ruth, Frl., Dr., Institut f. physikal. Therapie, Kantonsspital, Zürich 32.

LÜÖND, Hans, Dr., Englischviertelstrasse 20, Zürich 7/32.

LÜSCHER, M., Prof. Dr., Zoolog. Institut, Sahlistr. 8, Bern.

\*MANGOLD-WIRZ, Käthi, Frau, Dr., 48, Petersgasse, Basel.

\*MAQUELIN, Charles, dipl. ing. agr. ETH, Forch, ZH.

MATTHEY, R., Prof. Dr., Institut de Zoologie, Université, Lausanne.

<sup>1)</sup> \*MEILI, Ruth, Frl., stud. phil. II, Pfarrhaus, 8163, Obersteinmaur, ZH.

MENZEL, R., Dr., Brandisstr. 4, Chur.

\*MERMOD, Claude, lic. sci., Institut de Physiologie de l'Université, rue du Bugnon, Lausanne.

MERMOD, G., Dr., 22, Av. Soret, Genève.

MEYER-HOLZAPFEL, M., Frau, Prof. Dr., Dalmaziquai 149, Bern.

\*MEYLAN, André, lic. ès sc., Stations fédérales d'essais agricoles, domaine de Changins, Nyon (Vaud).

MICHEL, F., Dr., Göttibach 3, Thun.

<sup>1)</sup> \*MINDEK, Geza, cand. phil. II, Eidmattstr. 7, Zürich 7/32.

MISLIN, Hans, Prof. Dr., Zoolog. Institut, Universität, Mainz (Deutschland).

MORGENTHALER, Hans, Dr., Hangweg 100, Spiegel-Bern.

MORGENTHALER, O., Prof. Dr., Talbrännliweg 33, Bern-Liebefeld.

\*MÜLLER, Heinrich, Dr., Grafenriedstr. 1, Muri bei Bern.

MÜLLER, R., Dr., Grünauweg 12, Thun.

<sup>1)</sup> \*MUNZ, Peter, cand. phil. II, Moussonstr. 10, Zürich 7/44.

NADIG, Ad., Dr., Lyceum, Zuoz (Grisons).

\*NEF, W., Dr., c/o Kantonschemiker Muesmattstr., Bern.

<sup>1)</sup> \*NEFF, Magdalene, Frl., Zoologische Anstalt Rheinsprung 9, Basel.

\*NEIDITSCH-HALFF, L. A., Frau, Dr., Joachimsackerstrasse 30, Bottmingen (Basel).

<sup>1)</sup> \*NICOLET, Gérard, lic. en biologie, Institut d'Anatomie, Laboratoire d'Embryologie expérimentale, Ecole de Médecine, Genève.

\*NIKOLEI, E., Dr., Schmiedestrasse 1, Bremerhaven 1 (Deutschl.).

NÜESCH, H., Prof. Dr., Zoolog. Anstalt, Universität, Basel.

- \*OELHAFEN, Frieder, Dr., Neumattstr. 36, Buchs, AG.  
\*VON ORELLI, Marcus, Dr., Schmiedholzstr. 63, Münchenstein, BL.  
1) \*OTT, Jürg, Seilergraben 45, Zürich 1.  
PERRET, Jean-Luc, Musée d'Histoire naturelle, Genève 11.  
1) \*PERRET, Marie-Madeleine, M<sup>m</sup><sup>e</sup>, 2, rue Carteret, Genève.  
\*PERRON, Rolf, Dr., Tellstr. 60, Winterthur.  
\*PERROT, J.-L., Dr., Le Verex, Allaman (Vaud).  
1) \*PETERMANN, Urs, dipl. Natw. ETH, Zoolog. Institut der ETH, Zürich 6.  
PEYER, Bernh., Prof. Dr., Rosenbühlstr. 28, Zürich 44.  
\*PFEIFFER, Wolfgang, Dr. rer. nat., Mettlenstr. 11, Langnau a. Albis.  
PLATTNER, W., Dr., Schneebergstr. 4, St. Gallen.  
PONSE, Kitty, M<sup>lle</sup>, Prof. Dr., Station de Zoologie expér., 154, route de Malagnou, Genève.  
PORTMANN, Ad., Prof. Dr., Zoolog. Anstalt, Universität, Basel.  
\*PRUVOT-FOL, Mme., Dr., 12 rue de Fontenay, Sceaux, Seine, France.  
QUARTIER, Archibald, Inspecteur cantonal de la pêche, Neuchâtel.  
RAHM, Urs, Dr., IRSAC, Lwiro, D.S. Bukavu, Congo.  
REIFF, M., P. D. Dr., oberer Rebbergweg 31, Reinach, (Basel-Land).  
REINHARDT, H., Dr., Pfaffhausen, Binz (Zürich).  
1) \*REMENSBERGER, Peter, cand. phil. II, Ringstr. 68, Zürich 11/57.  
\*REY, A., Prof. Dr., Villette, Conches (Genève).  
1) \*REYNAUD, Jacqueline, M<sup>lle</sup>, 20, chemin Bedex, Thônex, (Genève).  
1) \*RIBAUT, J.-Pierre, lic. èssc., Institut de Zoologie, Université, Lausanne.  
RICHTER, Robert H. H., Dr. phil., Universitäts-Frauenklinik, Bern.  
RICKENBACHER, J., Dr. med., Anatom. Institut, Universität, Zürich  
\*RICKENMANN, Engelbert, Dr., Singenbergstr. 12, St. Gallen.  
\*RIESTERER, Lorette, Dr., Johannes Gutenberg Universität, Zool. Institut, Mainz (Deutschland).  
ROSIN, S., Prof. Dr., Zoolog. Institut, Sahlistr. 8, Bern.  
ROTH, Hermann, Dr., Haldenweg 36, Muri (Bern).  
\*RÖTHELI, Adolf, Dr., Solothurnstr., Büren a. Aare.  
1) \*RUPPLI, Erhard, Lic. phil., Rochette 33, Bienne.  
1) \*RYSER, Ulrich, stud. phil. II, Konkordiastr. 20, Zürich 32.  
\*SÄGESSER, Hannes, Dr., Naturhistorisches Museum, Bern.  
\*SALZMANN, R., Dr., Sandoz A.G., Lichtstrasse 35, Basel.  
\*SARASIN, Gédéon, Dr., Chrischonastr. 37, Basel.  
SAUTER, Willi, Dr., Entomolog. Institut E.T.H., Universitätstr. 2, Zürich 6.  
SCHAEPI, Th., Dr., Mühlebachstr. 41, Zürich 7.  
1) \*VON SCHENK, Dietrich A., cand. phil., Rosshofgasse 2, Basel.  
\*SCHENK, R., Prof. Dr. med., Anatom. Institut, Pestalozzistrasse, Basel.  
\*SCHENKEL, Rudolf, P. D. Dr., Missionstrasse 35, Basel.  
SCHIFFERLI, A., Dr., Vogelwarte, Sempach.  
SCHINZ, H. R., Prof. Dr., Kurhausstr. 78, Zürich 32.  
SCHLOETH, Robert, Dr., Hauptplatz 132, Zerneß (Graubünden).

SCHMASSMANN, W., Dr., Kant. Wasserwirtsch. Exp., Langhagweg 7, Liestal.

<sup>1)</sup> \*SCHMID, Hermann, cand. phil., Zoologisches Institut Univ., Zürich 6.  
SCHMID, W., Dr., Kantonsschule, Aarau.

\*SCHMIDT-EHRENBURG, L., Frl., Dr., Les Rochettes, Faoug (Vaud).

<sup>1)</sup> \*SCHNEIDER-MINDER, Annemarie, Frau, dipl. Natw. ETH, Zoolog. Inst. ETH, Zürich.

SCHNEIDER, Fritz, Dr., Eidg. Versuchsanstalt, Wädenswil.

\*SCHNITTER, Marco, Dr., Zoolog. Institut, Universität, Zürich 6.

<sup>1)</sup> \*SCHOLL, Adolf, cand. phil., Zoologisches Institut, Sahlistrasse 8, Bern.

\*SCHÖNHOLZER, Lilly, Frl., Dr., Schauenburgerstr. 31, Basel.

SCHÖNMANN, W., Dr., Kloosweg 64, Biel.

<sup>1)</sup> \*SCHUBIGER, Gerold, cand. phil. II, Witikonstr. 472, Zürich 7/53.

SEILER-NEUENSCHWANDER, J., Prof. Dr., Zoolog. Institut E.T.H., Zürich 6.

<sup>1)</sup> \*SINGEISEN, Christoph, cand. phil. II, Feldeggstr. 74, Zürich 8.

SLOWIK, Fritz, Prof. Dr. sc. nat. ETH, Hirslanderstr. 18, Zürich 7/32.

<sup>1)</sup> \*SORACREPPA, Bruno, cand. phil., Wangenstrasse 75, Dübendorf (Zürich).

<sup>1)</sup> \*SPINNER, Werner, cand. phil. II, Ifangstr. 74, Rümlang, ZH.

<sup>1)</sup> \*SPRING, Hanswerner, dipl. Natw. ETH, Zoolog. Institut ETH, Zürich 6.

\*STAIGER, Hansrudolf, Dr., Felsplattenstrasse 34, Basel.

\*STAMM, Roger, Dr., St. Galler-Ring 220, Basel.

<sup>1)</sup> \*STAUB, Margrit, Frl., cand. phil. II, Drusbergstr. 73, Zürich 7/53.

STAUFFER, Erwin, Dr., In den Klosterreben 48, Basel.

STEINER-BALTZER, A., Dr., Gymnasiallehrer, Rabbentalstr. 51, Bern.

STEINER, H., Prof. Dr., Astano, Tessin

\*STEMMLER-MORATH, Carl, Weiherhofstr. 132, Basel.

\*STINGELIN, Werner, Dr., Zoologische Anstalt, Basel.

STOHLER, Harro, Dr., Hauptstr. 117, Binningen (Basel-Land).

STOHLER, R., Dr., 1584 Milvia St., Berkeley, Calif., U.S.A.

STOLL, Eva, Frl., Dr., Streulistrasse 56, Zürich 7/32.

STRAUSS, F., Prof. Dr. med., Stadtbachstr. 46, Bern.

STRIEBEL, Heinrich, Dr., Spalentorweg 20, Basel.

STUDER, M., rue de France 23, Le Locle.

\*SUTER, Peter, Dr. phil., Adlergasse 10, Frenkendorf, BL.

SUTTER, Ernst, Dr., Naturhist. Museum, Augustinergasse 2, Basel.

\*TABAN, Charles, Dr., 5, Chemin du Pont-de-Ville, Chêne-Bougeries (Genève).

\*TAILLARD, Willy, Prof. Dr., «Kerville», rte d'Hermance, Collonge-Bellerive (Genève).

TANNER, Max, Dr. med. dent., Drusbergstr. 134, Zürich 7/53.

\*TARDENT, P., Prof. Dr., Zoologisches Institut der Universität, Zürich 6.

\*THÉLIN, Luc, Dr., Echevenex, Ain, France.

- \*TOBLER, Albert, Dr., Bungertweg 6, Küsnacht (Zürich).  
 1) \*TOBLER, Heinz, cand. phil. II, Krönleinstr. 55, Zürich 7.  
 TÖNDURY, G., Prof. Dr., obere Heslibachstrasse 79, Küsnacht (Zürich).  
 TSCHUMI, Pierre, Dr., Am Bärgli 19, Aegerten (Bern).  
 \*UEHLINGER, Verena, M<sup>lle</sup>, Les Grandes Vignes, Mies (Vaud).  
 ULRICH, H., Prof. Dr., Zoologisches Institut E.T.H., Zürich 6.  
 VALLETTE, M., M<sup>lle</sup>, Dr., 220, route de Lausanne, Pregny-Chambésy, GE.  
 VOLKART, H. D., Dr. phil., Gryphenhübeliweg 41, Bern.  
 1) \*VUILLEUMIER, François, Museum of comparative Zoology, Cambridge 38, Mass. U.S.A.  
 \*WACKERNAGEL, Hans, Dr., Schützenmattstr. 50, Basel.  
 WAGNER, G., Dr., Sonnenrain 25, Ittigen (Bern).  
 \*WAGNER-JEVSEENKO, Olga, Frau, Dr., St. Albanring 195, Basel.  
 \*WALDER, Paul, Dr., Sek.-Lehrer, Alpenstrasse 23, Unt-Wetzikon.  
 \*WALKER, Ilse, Dr., Entomology Section, Agr. and Mech. College of Texas, College Station, Texas, U.S.A.  
 WEBER, Klaus, Feldeckstr. 41, Zürich 8.  
 WEBER, Rudolf, Prof. Dr., Zoolog. Institut, Sahlistr. 8, Bern.  
 1) \*WEHRLI(-MERMOD), Claire-Lise, M<sup>me</sup>, rue de Saint-Jean 36, Genève.  
 \*WEIHS, D. E., M<sup>me</sup>, 15, avenue Juste Olivier, Lausanne.  
 WELTI, E., M<sup>me</sup>, Dr., chemin des Voirons 4, Grange-Falquet, Genève.  
 1) \*WENT, Dirk, cand. natw., Hadlaubstr. 39, Zürich 7/44.  
 WERDER, O., Dr., Kirchliweg 8, St. Gallen 10.  
 \*WIESINGER, Dorothee, Dr., Wanderstrasse 121, Basel.  
 WIESMANN, R., Dr., Wilhelm Denzstr. 52, Binningen (Basel-Land).  
 WILDHABER, M.-A., Dr. pharm., rue de l'Orangerie, Neuchâtel.  
 \*WOKER, Hanspeter, Dr., Bahnweg 18, Küsnacht (Zürich).  
 WÜRGLER, F. E., dipl. Natw. ETH, Hornbachstrasse 69, Zürich 8.  
 \*WUTHRICH, M., M<sup>lle</sup>, 7, rue César-d'Yvernois, Colombier (Neuchâtel).  
 WYSS-HUBER, M., Frau Dr., Eigerstrasse 50, Bern.  
 \*ZELLER, Christoph, Dr., Princess Margaret Training Center, P.O. Box 20500, Dar es Salaam, Tanganyika.  
 ZESIGER, Fred, 43, rue Jaquet-Droz, La Chaux-de-Fonds.  
 ZINKERNAGEL, R., Dr., Sieglinweg 12, Riehen (Basel).  
 \*ZISWILER, Vinzenz, Dr. phil., Rotfluhstr. 45, Zollikon, ZH.  
 \*ZÜRCHER, Christian, cand. phil., Loorenrain 38, Zürich 7/53.

Les membres dont le nom est précédé d'un \* ne font pas partie de la Société helvétique des Sciences naturelles.

Ceux dont le nom est précédé d'un 1) bénéficient de la demi-cotisation consentie aux étudiants.

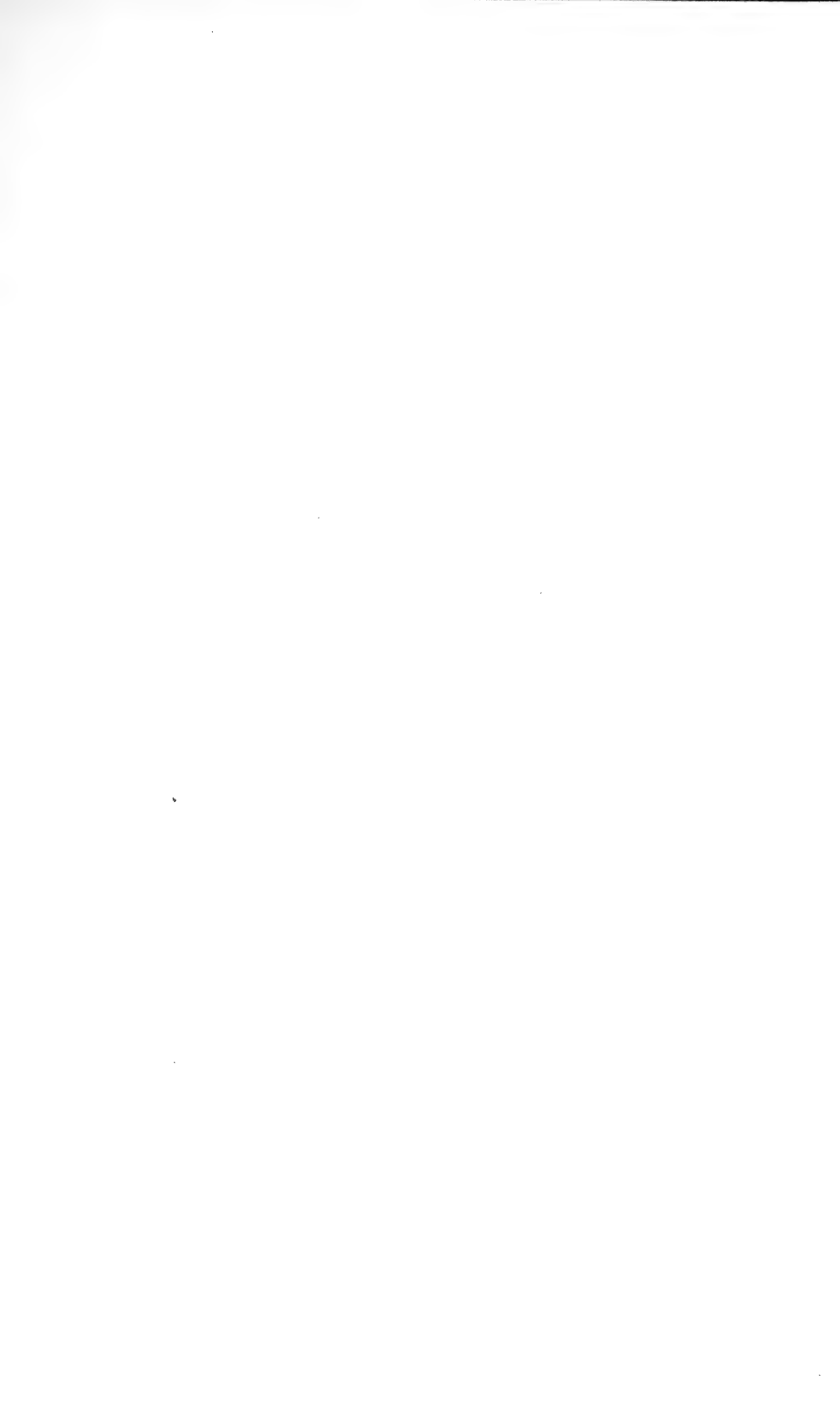
Prière de communiquer les changements d'adresse au trésorier, M. le Dr. H. D. VOLKART, Gryphenhübeliweg 41, Berne.

Adressenänderungen sind dem Kassier, Herrn Dr. H. D. VOLKART, Gryphenhübeliweg 41, Bern, zu melden.



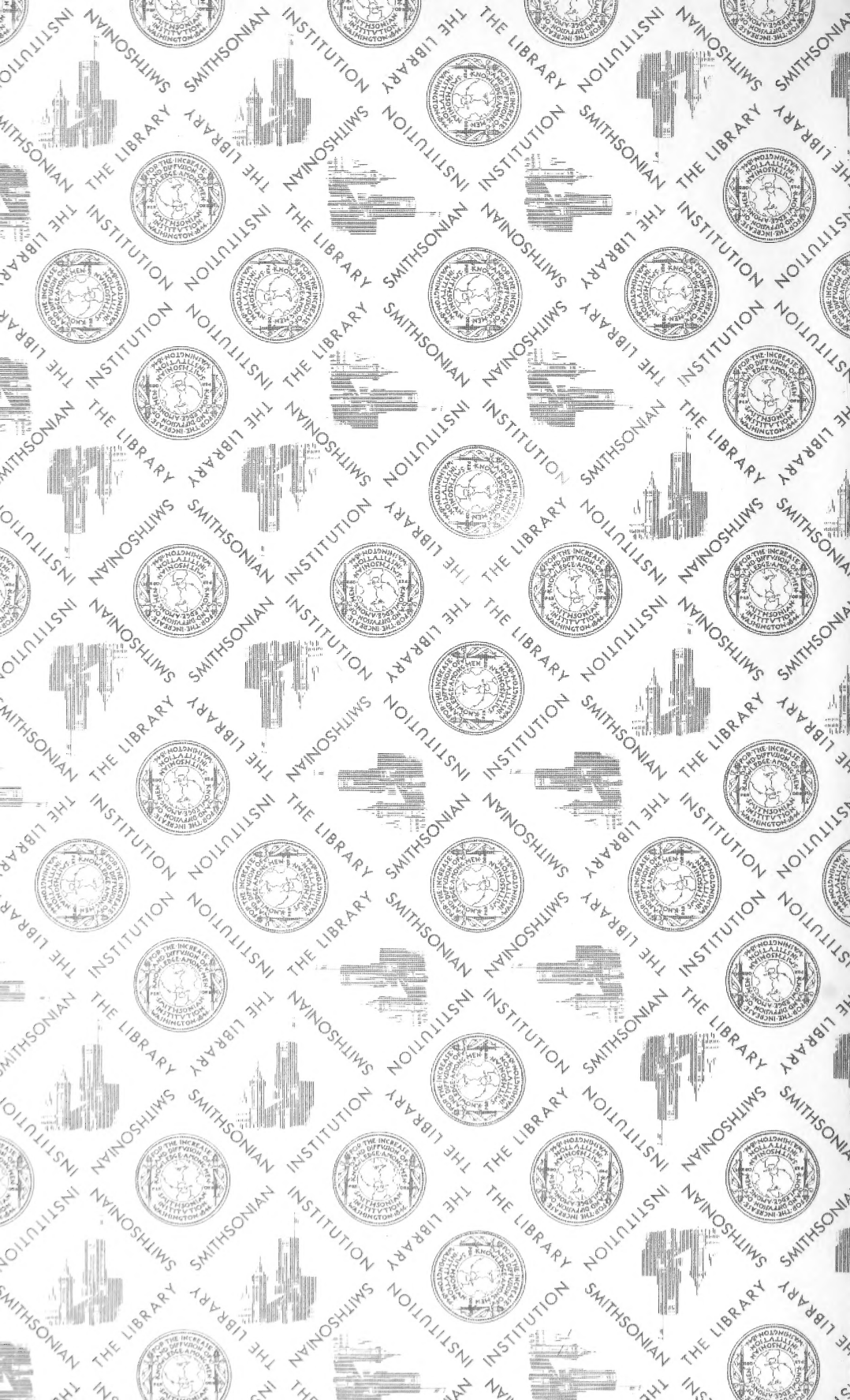


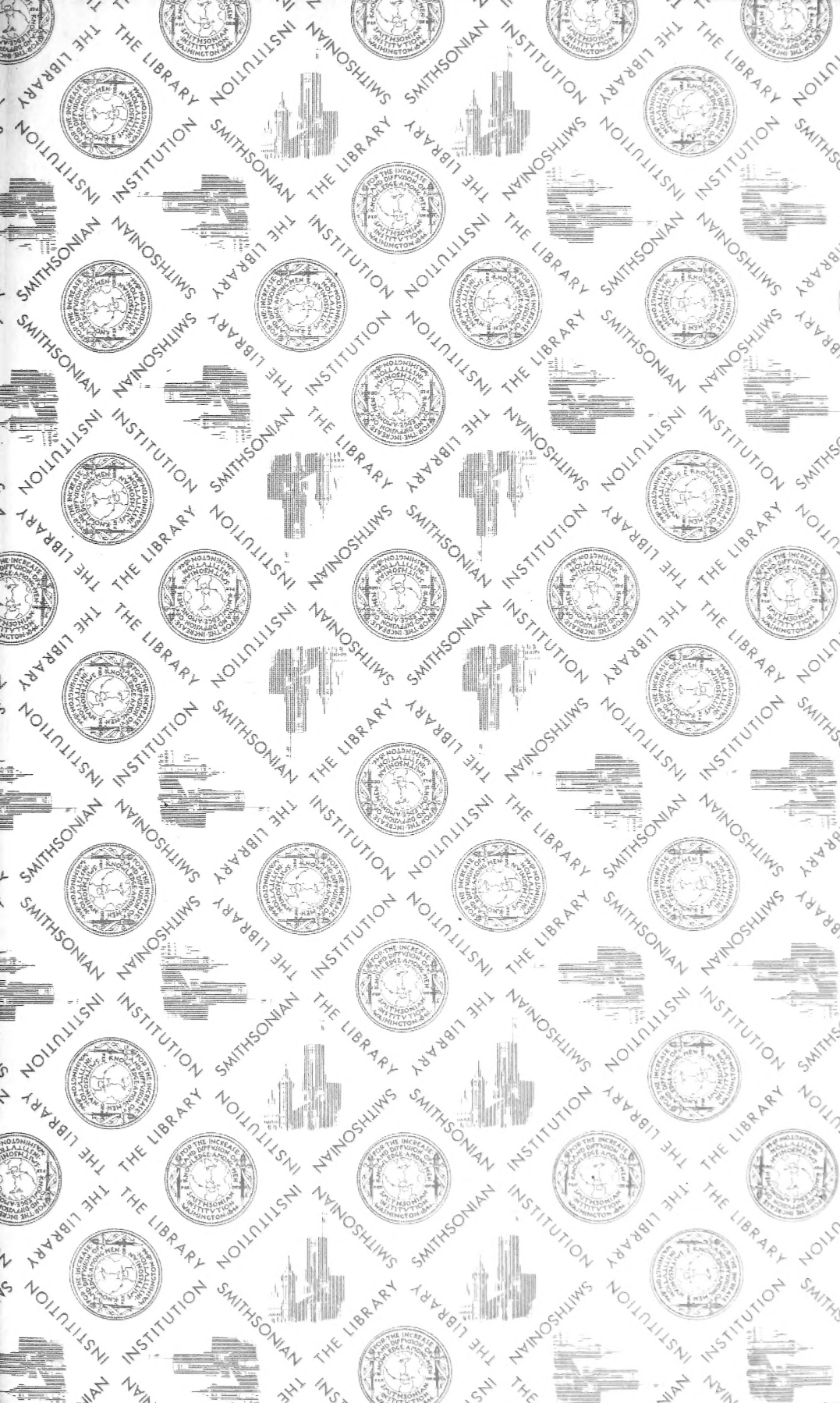












SMITHSONIAN INSTITUTION LIBRARIES



3 9088 01260 1456